

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA



“Evaluación de un sistema adhesivo de grabar y lavar de dos pasos en dentina grabada vs dentina grabada y tratada con NaOCl”

TESIS DOCTORAL

CRISTINA MARRO ALESSO

GRANADA, 2010

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Cristina Marro Alesso
D.L.: GR 3003-2010
ISBN: 978-84-693-2586-5

M^a ESTRELLA OSORIO RUIZ, PROFESORA TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.

CERTIFICA:

Que los trabajos efectuados en la elaboración de la Memoria de Investigación titulada: “Evaluación de un sistema adhesivo de grabar y lavar de dos pasos en dentina grabada vs dentina grabada y tratada con NaOCl” presentada por Dña. Cristina Marro Alesso, han sido realizados bajo mi co-dirección y supervisión, reuniendo las condiciones académicas necesarias para su presentación, para optar al Grado de Doctor.

Y para que así conste donde proceda, firmo la presente en Granada a 17 de Febrero del 2010.

Fdo: M^a Estrella Osorio Ruiz

MANUEL TOLEDANO PÉREZ, CATEDRÁTICO DEL DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.

CERTIFICA:

Que los trabajos efectuados en la elaboración de la Memoria de Investigación titulada: “Evaluación de un sistema adhesivo de grabar y lavar de dos pasos en dentina grabada vs dentina grabada y tratada con NaOCl” presentada por Dña. Cristina Marro Alesso, han sido realizados bajo mi co-dirección y supervisión, reuniendo las condiciones académicas necesarias para su presentación, para optar al Grado de Doctor.

Y para que así conste donde proceda, firmo la presente en Granada a 17 de Febrero del 2010.

Fdo: Manuel Toledano Pérez

RAQUEL OSORIO RUIZ, CATEDRÁTICO DEL DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.

CERTIFICA:

Que los trabajos efectuados en la elaboración de la Memoria de Investigación titulada: “Evaluación de un sistema adhesivo de grabar y lavar de dos pasos en dentina grabada vs dentina grabada y tratada con NaOCl” presentada por Dña. Cristina Marro Alesso, han sido realizados bajo mi co-dirección y supervisión, reuniendo las condiciones académicas necesarias para su presentación, para optar al Grado de Doctor.

Y para que así conste donde proceda, firmo la presente en Granada a 17 de Febrero del 2010.

Fdo: Raquel Osorio Ruiz

AGRADECIMIENTOS

A los Directores de esta Tesis.

A mi Tutora Profesora Dra. Estrella Osorio, por su confianza, orientación, su dedicación desinteresada, incansable ayuda, honestidad y preciosa amistad.

Al Profesor Dr. Manuel Toledano, por confiar en mí, aceptarme en tan prestigioso grupo de trabajo, honrarme con su dedicación, consejos y amistad.

A la Profesora Dra. Raquel Osorio, por ser ejemplo de trabajo, comprensión, apoyo y amistad.

A la Prof. Dra. Fátima S. Aguilera, por su paciencia, ayuda y amistad.

Al Dr. Alfredo Valencia, por su insistencia en este duro reto, por su ejemplo de trabajo, sus enseñanzas y honrarme con su amistad.

A los colaboradores de mi Clínica, especialmente a Trinidad Lupión, por compartir durante tantos años mis éxitos y fracasos.

A mi familia, mi madre, y mis hermanos, por formar parte de mí ser, a mi padre que desde donde esté se que estará orgulloso de mí.

Y muy especialmente a mi esposo Juan Enrique, por su amor y estar siempre a mi lado, a mis hijos Gastón y Bruno, por compartir mis alegrías y tristezas, comprender mis ausencias, y apoyarme siempre.

A mis amigos los de aquí y los de allí, por creer en mí.

A la Universidad de Granada por darme esta oportunidad.

A los proyectos de investigación MAT 2008-02347 de la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, y P08-CTS-3944 y P07-CTS 2568 de la Junta de Andalucía, dentro de los cuales se ha desarrollado este trabajo.

INDICE

I.INTRODUCCIÓN	1
I.1. El esmalte dental	3
I.2. La dentina	7
I.3. Adhesión a los tejidos dentinarios	11
I.3.1. <u>Concepto de adhesión</u>	11
I.3.2. <u>Adhesión a esmalte</u>	13
I.3.3. <u>Adhesión a dentina</u>	16
I.3.4. <u>Composición química de los sistemas adhesivos actuales.</u>	20
I.3.5. <u>Clasificación de los sistemas adhesivos</u>	32
I.3.6. <u>Estado del arte de la adhesión a la dentina con los sistemas adhesivos de grabar y lavar.</u>	43
II. OBJETIVOS	47
III. MATERIAL Y MÉTODOS	49
III.1. Material	50
III.2 Caracterización de la superficie.	51
III.2.1. <u>Medida del ángulo de contacto</u>	51
III.2.2. <u>Perfilometría de la superficie (rugosidad).</u>	57

III.3. Caracterización de la interfase.	59
III.3.1. <u>Evaluación de la resistencia adhesiva</u>	59
III.3.2. <u>Análisis de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).</u>	65
III.4. Evaluación del sellado marginal	66
III.5. Análisis estadístico	70
III.5.1. <u>Estadística descriptiva</u>	70
III.5.2. <u>Estadística analítica</u>	70
IV. RESULTADOS	72
IV.1. <u>Tablas</u>	76
IV.2. <u>Imágenes</u>	78
V. DISCUSIÓN	81
VI. CONCLUSIONES	97
VII. BIBLIOGRAFIA	100

I. INTRODUCCIÓN

Según la OMS la caries es una de las patologías más frecuentes en la dentición. Su tratamiento consiste en la eliminación del tejido careado y la reconstrucción de la anatomía dentaria. Surge así uno de los mayores retos de la Odontología ya que pretende reconstruir las partes destruidas de la estructura dentaria y su estética mediante la inserción de un material restaurador.

La adhesión es definida como el “fenómeno físico consistente en la unión de dos objetos entre sí, quedando pegados uno al otro por fuerzas químicas, físicas o ambas, a menudo con la mediación de un adhesivo (ISO/TR 111405, 1994E) o fuerza que produce la unión de dos sustancias cuando se ponen en íntimo contacto”.

En Odontología, la aplicación de la técnica del grabado ácido, introducida por Buonocore en 1955, permitió adherir las resinas compuestas al tejido dentario (Buonocore, 1955), originando una revolución en la Operatoria Dental. De esta forma, se hace posible restaurar el diente de forma estética y con diseños cavitarios más conservadores.

La complejidad histomorfológica de los tejidos dentarios ocasiona grandes dificultades para conseguir la adhesión de las resinas compuestas con la técnica del grabado ácido, requiriéndose un mejor conocimiento de su microestructura y fisiología, así como de los múltiples sistemas adhesivos comercialmente disponibles en la actualidad (Marshall y cols., 1997a). Estos sistemas tienen como fin mejorar la adhesión a los

tejidos, simplificando el procedimiento y reduciendo su sensibilidad a la técnica. (Hannig y cols., 1999).

Se hace necesario hacer un breve recordatorio de la morfología e histología de dichos tejidos para una mejor comprensión del mecanismo de adhesión a las resinas.

I.1. El esmalte dental

El esmalte está constituido por una matriz orgánica (1-2%), una matriz inorgánica (95%) y agua (3-5%) (Berkovitz y cols., 2002). En la matriz orgánica, el componente más importante es de naturaleza protéica, en el que destacan las amelogeninas, las enamelinas, las ameloblastinas o amelinas y la tuftelina, presentes en mayor o menor medida según las distintas fases de formación del mismo. Además de estas proteínas específicas, existen proteínas séricas, enzimas y pequeños porcentajes de condroitín 4-sulfato, condroitín 6-sulfato y lípidos (Gómez de Ferraris y Campos, 1999).

El tejido adamantino se asemeja a otros tejidos mineralizados del organismo. Sin embargo, hay características que hacen del esmalte un tejido único: deriva del ectodermo y se forma a partir del llamado órgano del esmalte. Su matriz inorgánica está constituida por sales minerales cálcicas, básicamente de fosfato y carbonato, en forma de cristales de hidroxiapatita. En él, a diferencia de lo que ocurre en la dentina y en el tejido óseo, los cristales de dichas sales minerales son más voluminosos y no parece existir fosfato cálcico amorfo (LeGercos, 1990). Los cristales de hidroxiapatita se hallan

densamente empaquetados y son de mayor tamaño que los de otros tejidos mineralizados. Los ameloblastos son las células secretoras del esmalte y desaparecen durante la erupción dentaria tras completar su formación. Esto implica que no hay crecimiento ni nueva aposición de esmalte después de la erupción. El esmalte es un tejido acelular, avascular y sin inervación, incapaz de repararse, aunque pueden producirse fenómenos de remineralización (Berkovitz y cols., 2002). Se pueden encontrar oligoelementos como potasio, magnesio, hierro, flúor, manganeso, cobre, etc. Los iones flúor pueden sustituir a los grupos hidroxilo presentes en la hidroxiapatita, transformándose en fluorhidroxiapatita. Ésta última es resistente a la acción de los ácidos y, por tanto, más resistente a la caries (Ten Cate, 1986).

El agua es el tercer integrante del esmalte. Está presente en la periferia de los cristales constituyendo la capa de hidratación o de agua adsorbida. Su porcentaje en el esmalte disminuye progresivamente con la edad (Gómez de Ferraris y Campos, 1999).

Histológicamente, el esmalte está constituido por la denominada unidad estructural básica, que es el prisma, y por las unidades estructurales secundarias, que se originan básicamente a partir de la anterior. Los prismas son estructuras longitudinales que miden alrededor de 4-6 micras de espesor y que se dirigen desde la unión amelodentinaria hasta la superficie del esmalte (Mjor y Pindborg, 1974). La longitud de los prismas es mayor que el propio espesor del esmalte pues su trayecto es sinuoso. El número de los mismos varía en relación con el tamaño de la corona, oscilando entre 5 y 12 millones. El conjunto de prismas forma el esmalte prismático constituyente de la mayor parte de este tejido.

La relación entre los cristales dentro de cada prisma y en la región interprismática es de especial interés. Los cristales confluyen desde el eje central del prisma, continuando con su inclinación lateral hasta que se ubican perpendicularmente respecto del prisma en la región interprismática (Ten Cate, 1986). La razón por la cual los cristales asumen esta configuración en el esmalte se debe a la acción de los ameloblastos y sus fibras de Tomes durante la formación del mismo. El aspecto de los prismas y de la región interprismática en un corte transversal se ha comparado con el contorno del ojo de una cerradura (Meckel, 1965). Este "ojo de cerradura" está dividido en cabeza y cola. Los prismas se relacionan entre sí, de tal modo, que entre dos cabezas se inserta la cola perteneciente a un prisma contiguo (Mjôr y Pindborg, 1974).

La dirección de los prismas en el esmalte tiene importancia clínica durante la preparación cavitaria. Generalmente los prismas discurren en ángulo recto respecto a la dentina subyacente a la superficie del diente; en la unión esmalte-cemento los prismas adoptan una orientación más horizontal. Por tanto, al preparar las superficies del esmalte en el diseño cavitario, dependiendo de la inclinación del corte, los prismas aparecerán expuestos en planos tangenciales, oblicuos o longitudinales (Van Meerbeek y cols., 1996).

Las unidades estructurales secundarias, son el resultado del diferente grado de mineralización o del cambio de orientación de los prismas y de la interrelación del esmalte con la dentina subyacente o la periferia medioambiental. Algunas de estas son las estrías de Retzius, las laminillas o fisuras del esmalte, los penachos de Linderer, las bandas de Hunter-Schreger, el esmalte nudoso, la conexión amelodentinaria, los husos

adamantinos, las periquimatías y las líneas de imbricación de Puckerill (Ten Cate, 1986; Gómez de Ferraris y Campos, 1999).

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, el esmalte es casi completamente homogéneo en su estructura y composición, independientemente de su profundidad y localización. Sin embargo, en la unión amelodentinaria y en algunas áreas de su superficie externa su estructura es aprismática (Gwinnett, 1990). Es decir, la sustancia adamantina mineralizada no constituye prismas (Berkovitz y cols., 2002) y los cristales están dispuestos paralelamente entre sí y perpendiculares a la superficie (Van Meerbeek y cols., 1996). El espesor de este esmalte aprismático es de unas 30 micras y está presente en todos los dientes primarios y en un 70% de los dientes permanentes. En estos últimos se encuentra ubicado en mayor medida en las regiones cervicales y en las fosas y fisuras, pero está ausente en las superficies cuspídeas (Gómez de Ferraris y Campos, 1999).

La estructura prismática altamente mineralizada del esmalte hace de éste tejido el más duro del organismo, sin embargo, este alto contenido mineral también condiciona su elevada fragilidad (Mjor y Pindborg, 1974).

1.2. La dentina

La dentina es un tejido conectivo mineralizado de origen mesodérmico, que contiene las prolongaciones citoplasmáticas de los odontoblastos, con elevado contenido de materia orgánica y agua. Este tejido es el encargado de transmitir los estímulos térmicos, químicos y táctiles, transfiriéndolos por distintos mecanismos a los receptores del plexo nervioso subodontoblástico, llegando a la pulpa dentaria una información rápida y efectiva. La característica principal de la dentina, bajo el punto de vista histomorfológico, es la presencia de los túbulos dentinarios que atraviesan todo su espesor y que albergan dichas prolongaciones citoplasmáticas. Su dureza es semejante a la del tejido óseo. La dentina madura está compuesta de un 70% en peso de material inorgánico, sobre todo de hidroxiapatita, y de un 18% de matriz orgánica, que en su mayor porción es colágeno tipo I y el 12% es fluido (Mjor Pindborg, 1974; Le Geros, 1990). Los cuerpos celulares de los odontoblastos se alinean a lo largo del borde dentinario interno, donde también forman el límite periférico de la pulpa dental. La estructura tubular y el contenido acuoso de la dentina le otorgan sus propiedades viscoelásticas y permiten que sea permeable a estímulos térmicos y mecánicos (Ten Cate, 1986).

En resumen, la dentina es un complejo hidratado, compuesto por cuatro elementos: los túbulos orientados y rodeados por una región peritubular hipermineralizada, que a su vez se halla embebida en una matriz intertubular formada por colágeno Tipo I que engloba cristales de hidroxiapatita y fluido dentinario (Marshall, 1993).

Los túbulos dentinarios se extienden desde la unión amelodentinaria, en la porción coronal del diente, y desde el cemento radicular hasta la predentina, donde convergen. Esto da lugar a la presencia de una mayor densidad tubular cerca de la cámara pulpar, donde los cuerpos de los odontoblastos se sitúan tapizando la misma. El área tubular y el diámetro de los mismos varían desde un 22% y 2.5 μm , respectivamente, cerca de la pulpa, a un 1% y 0.8 μm en la unión amelodentinaria (Pashley, 1989). Los túbulos siguen un trayecto en “S” itálica desde la superficie externa de la dentina hasta su límite con la pulpa. Esta curvatura es menos pronunciada en la dentina radicular y menos aún en el tercio cervical de la raíz, así como debajo de los bordes incisales y cuspídeos, donde puede tener un curso casi recto (Ten Cate, 1986). En su interior contienen el proceso odontoblástico y fluido dentinario. La extensión del proceso odontoblástico todavía se desconoce, pero hay evidencias de que alcanza la unión amelodentinaria (Marshall y cols., 1997a).

La porción terminal de los túbulos se ramifica, dando como resultado un número mayor de túbulos por unidad de longitud en la dentina del manto. Esta ramificación terminal es especialmente profusa en la dentina radicular. Los túbulos dentinarios también presentan extensiones laterales que se ramifican a partir del tubo principal, conectando túbulos vecinos a intervalos de 1.0 a 2.0 μm a lo largo de su longitud pudiendo alojar, extensiones citoplasmáticas laterales de los procesos odontoblásticos (Ten Cate, 1986). Estas variaciones regionales en la estructura de la dentina, implican que las propiedades y la naturaleza que el substrato presenta para la adhesión, varíen con su localización (Marshall, 1993).

La dentina peritubular es un anillo hipermineralizado que conforma al túbulo dentinario. Está constituida fundamentalmente por cristales de hidroxiapatita y muy pocas fibras colágenas. La formación de la dentina peritubular es un proceso continuo, que puede acelerarse por estímulos ambientales, ocasionando una reducción progresiva del tamaño de la luz tubular, que puede incluso obliterarse, disminuyendo la permeabilidad de la dentina (Ten Cate, 1986). Este fenómeno de esclerosis aparece también con la edad y es totalmente fisiológico, siendo más marcado en el tercio apical de la raíz y en la corona, entre el límite amelodentinario y la superficie de la pulpa.

La dentina intertubular está localizada entre la dentina peritubular y constituye el componente mayoritario de la dentina. Es el principal producto secretorio de los odontoblastos y consta de una red de fibrillas colágenas estrechamente tejida, que miden entre 50 y 200 nm de diámetro, en la cual se depositan cristales de hidroxiapatita. Los cristales se orientan con sus ejes mayores paralelos a las fibras de colágeno alineándose estas últimas de forma grosera en ángulos rectos respecto a los túbulos dentinarios (Ten Cate, 1986).

El contenido mineral de la dentina se reparte en dos áreas, la dentina intertubular y en la dentina peritubular de una forma más concentrada. Está constituido por cristales de hidroxiapatita. Los cristales están formados por miles de unidades moleculares, tienen una forma laminar, que de perfil adoptan el aspecto de agujas con una longitud de hasta 20 nm y un grosor que puede llegar hasta los 3,5 nm. Estos cristales son de menor tamaño que los del hueso y del cemento, pero más pequeños que los cristales del esmalte. Esta materia inorgánica tiene también carbonatos, otros fosfatos cálcicos distintos de la hidroxiapatita, sulfatos y oligoelementos tales como

Cobre, Flúor, Zinc y Hierro (Mjor and Pindborg, 1974; Davis, 1986). El pequeño tamaño de los cristales, compuestos por una apatita defectuosa con un menor contenido cálcico y un mayor contenido de carbonatos, hace que sea una estructura más soluble (Marshall y cols., 1997a).

El fluido dentinario ocupa el espacio que dejan las prolongaciones odontoblásticas dentro de los túbulos y comunica con el fluido tisular de la pulpa. Según la teoría hidrodinámica (Brannstron y Astrom, 1972) una vez que el esmalte se pierde y la dentina queda expuesta, los estímulos externos causan un movimiento del líquido a lo largo de los túbulos y pueden activar las terminaciones nerviosas de la pulpa causando dolor. Este movimiento de fluido dentro de los túbulos se ha llamado permeabilidad transdental (Pashley y cols., 1993) y es responsable de la sensibilidad dentinaria tanto en la dentina expuesta como de la sensibilidad postoperatoria (Brannstron y Asrrom, 1972).

I.3. Adhesión a los tejidos dentarios

I.3.1. Concepto de adhesión

La adhesión se define como el estado en el que dos superficies se mantienen unidas mediante fuerzas o energías interfaciales basadas en mecanismos químicos, mecánicos o ambos, con la mediación de un adhesivo. La superficie o substrato que se adhiere es denominado adherente. El adhesivo se define como el material que una vez aplicado sobre las superficies de dos sustancias es capaz de mantenerlas juntas, resistiendo a su separación (Packham, 1992; Kinloch, 1987) y el espacio que hay entre estas dos superficies se denomina interfase.

En el caso de la Odontología entran en juego tres substratos diferentes: el diente, el material de restauración y el adhesivo. Por consiguiente, siempre se crean dos interfases: adhesivo-diente y material de restauración-adhesivo.

La adhesión puede conseguirse por medio de dos mecanismos: adhesión mecánica o adhesión química. La adhesión mecánica depende de la penetración o imbricación del adhesivo en las zonas retentivas del adherente. Cuando las irregularidades superficiales responsables de la adhesión tienen dimensiones microscópicas se denomina adhesión micromecánica, mientras que si son apreciables a simple vista se denomina adhesión macromecánica (Nakabayashi y Pashley, 1998). La adhesión química está basada en fuerzas de valencia primarias como enlaces covalentes e iónicos, que producen enlaces más resistentes. La adhesión que depende de atracciones producidas por fuerzas de Van der Waals, por las fuerzas de dispersión de

London o por puentes de hidrógeno se denomina adhesión física y produce enlaces relativamente más débiles (Nakabayashi y Pashley, 1998).

Cualquiera que sea el mecanismo de adhesión utilizado, el adhesivo debe ser capaz de humedecer el substrato (esmalte, dentina o cemento), para que se establezca un contacto íntimo entre ambos. La capacidad de un adhesivo para humectar una superficie puede evaluarse midiendo el ángulo de contacto que se forma cuando se aplica una gota de este adhesivo sobre la superficie. Para obtener una buena humectación se requiere que el ángulo de contacto sea bajo, idealmente cerca de 0° . Ángulos de contacto elevados indican un mojado deficiente y la formación de glóbulos (McCabe, 1988; Milosevic, 1992; Erickson, 1992; Perdigão y Ritter, 2001). Por tanto, la humectabilidad es el primer requisito para la adhesión (Erickson, 1992) y depende de dos parámetros físicos fundamentales: la tensión superficial del adhesivo y la energía superficial libre del adherente.

La condición que ha de cumplirse para que la humectabilidad sea máxima es que la tensión superficial del líquido aplicado (adhesivo) sea menor que la energía superficial del substrato dentario. La humectabilidad también está directamente relacionada con la rugosidad del substrato (Wenzel, 1936).

Se puede establecer que el proceso de adhesión en odontología se fundamenta en el siguiente proceso:

- acondicionamiento del adherente con el fin de modificar su morfología y/o su estructura química;

- imprimación del adherente, gracias a la aplicación de una sustancia química previa con la finalidad de hacer el substrato o adherente más receptivo al adhesivo;
- aplicación del adhesivo.

Estos tres pasos no tienen por que darse siempre, ni de forma diferenciada. Pueden darse de forma simultánea o faltar alguno de ellos.

I.3.2. Adhesión al esmalte

La adhesión al esmalte es uno de los problemas mejor resueltos en Odontología desde que Buonocore, en 1955, lo aplicó al esmalte de dientes extraídos para hacerlo más receptivo al procedimiento adhesivo. Buonocore concluyó que las resinas acrílicas podían ser adheridas a una superficie de esmalte humano grabada con ácido fosfórico al 85% durante 30 segundos (Buonocore, 1955). El desarrollo posterior de las resinas sin carga dió lugar a que el mecanismo de adhesión de las mismas al esmalte grabado fuese tan eficaz que, aún en nuestros días, siga siendo el principal pilar del éxito de las restauraciones con resinas compuestas.

Los objetivos del grabado ácido del esmalte son: eliminar el barrillo generado durante la instrumentación, crear microporosidades en su superficie por la disolución parcial de las estructuras prismática e interprismática, lo que eleva su rugosidad microscópica (Retief y cols., 1986) y la superficie de contacto entre el esmalte y la resina. Además, aumenta su energía superficial lo que permite la perfecta imbricación de la resina en el tejido adamantino (Busscher y cols., 1987).

Desde la descripción de la técnica de grabado ácido, la concentración de ácido ortofosfórico y el tiempo de aplicación del mismo se han ido reduciendo, de tal forma que actualmente se recomienda su uso en una concentración que oscila entre el 30% y el 40% (Silverstone, y cols., 1975) durante 15-30 segundos, puesto que es el que crea un patrón más retentivo. Este ácido remueve aproximadamente 10 μm de la superficie del esmalte, generando una capa porosa de entre 5 y 50 μm de profundidad (Retief, y cols., 1986; Silverstone, 1974; Gwinnett, 1971) dando lugar a tres patrones morfológicos distintos. El más común, llamado patrón tipo I, comprende fundamentalmente la remoción del núcleo de los prismas del esmalte, permaneciendo intacta la periferia. En el patrón tipo II: la periferia de los prismas se disuelve y los núcleos permanecen intactos. El patrón tipo III no es homogéneo y se pueden encontrar regiones similares a las de los patrones I y II (Gwinnett, 1971; Silverstone, 1975). Esta clasificación, clínicamente, no es muy importante porque la realidad es que en una misma superficie de esmalte aparecen siempre mezclados los tres tipos de grabado, incluso en una zona muy pequeña, ya que los prismas se disponen en forma de haces que se curvan y retuercen arbitrariamente.

Se ha investigado la aplicación de ácidos más débiles o en concentraciones más bajas que la actualmente aceptada. Algunos estudios comprobaron que ácidos como el fosfórico al 10%, el ácido nítrico al 2.5% y el ácido maleico al 10% grababan el esmalte con la misma eficacia que el ácido fosfórico al 37% (Berry, 1990; Blosser, 1990; Gwinnett y García-Godoy, 1992). Sin embargo, los resultados de otros estudios indicaron que ácidos en concentraciones mas bajas producen valores menores de adhesión *in vitro*, cuando se aplicaban durante el tiempo recomendado por los

fabricantes (Triolo, 1993), y originaban patrones morfológicos cualitativamente distintos a los obtenidos con el ácido ortofosfórico del 32% al 37% (Perdigão y Ritter, 2001).

Es importante considerar que la superficie intacta del esmalte suele ser más resistente al grabado, ya que en ella el esmalte puede ser aprismático y con frecuencia tiene un mayor contenido de flúor (García Barbero y Kessler, 1997). Además, el grabado del esmalte cortado actúa en función de la zona de los prismas que se exponen al ácido. El mejor efecto se consigue cuando el ácido ataca las cabezas de los prismas porque produce una descalcificación mayor en el centro que en la periferia, de forma que se crean unos microporos de 5 a 15 micras de profundidad que son altamente retentivos.

Una vez grabado el esmalte, se aplica una resina con unas propiedades físicas específicas para humectar correctamente dicha superficie; como son de baja viscosidad y tensión superficial, los monómeros penetran en las microporosidades por atracción capilar y copolimerizan entre sí. La resina envuelve los cristales de hidroxiapatita y los hace resistentes al ácido (Gwinnett y Matsui, 1967; Hotta y cols., 1992); además, se imbrica formando prolongaciones dentro de las microporosidades (*tags*), estableciéndose la denominada capa híbrida (Nakabayashi y cols., 1991).

Por tanto, el mecanismo por el que se establece la adhesión al esmalte es micromecánico, basado en la penetración de los monómeros en las microporosidades del sustrato. Si la capa híbrida que se forma es de calidad, ofrecerá resistencia al ataque ácido (Nakabayashi y Pashley, 1998). Además, la traba mecánica generada contrarresta

la fuerza de contracción de polimerización de la resina (Davidson y cols., 1984), lo que permite la retención de las restauraciones. Aunque es fundamental que los monómeros tengan capacidad de difundir a través de la superficie desmineralizada del esmalte (Gwinnett y Matsui, 1967), no existe una correlación clara entre la profundidad de penetración de la resina en el esmalte grabado y la fuerza de adhesión resina-esmalte producida (Legler y cols., 1989).

Este proceso de hibridación cambia completamente las propiedades físico-químicas de las superficies de los sustratos dentarios, considerándolo algunos autores un tipo de ingeniería tisular (Nakabayashi y Pashley, 1998).

I.3.3 Adhesión a dentina

Desde el desarrollo de la técnica de adhesión al esmalte, se intentó aplicar a la superficie dentinaria, sin embargo, no fue hasta los años ochenta cuando se consiguió un sistema adhesivo que ofreciera propiedades relevantes para su aplicación clínica (Bowen y cols., 1982).

Los adhesivos de primera generación se basaban en un concepto de adhesión química a la porción orgánica, inorgánica o a ambas de la dentina. En la porción orgánica la adhesión se establecía con el colágeno por la presencia de hidroximetilmetacrilato (HEMA) o gluteraldehído y en la porción inorgánica el adherente era la hidroxiapatita por quelación. En la mayoría de los casos los resultados de fuerza de adhesión no permitían su aplicación clínica por su bajo valor (Asmussen y Hansen, 1993; Marschal y cols., 1997).

Una vez demostrado que no se podía hablar de adhesión química entre las resinas y la dentina (Eliades y cols., 1990), se estableció que el mecanismo por el que se conseguía, se debía a una retención micromecánica. La adhesión micromecánica se basa en la formación de *tags* de resina en el interior de los túbulos y en la formación de una estructura híbrida entre la dentina y la resina, denominada capa híbrida o zona de interdifusión (Nakabayashi y cols., 1982; Nakabayashi 1992). Según Pashley y Carvalho (1997) el resto de la adhesión se debe a un fenómeno superficial, dado que la adhesión química, en caso de existir, parece contribuir muy poco y puede estar enmascarada por la adhesión mecánica.

Nakabayashi (1982) describió la formación de la capa híbrida. Esta requiere la desmineralización de la dentina, quedando la matriz de colágeno expuesta y permeable para ser infiltrada por la resina que, al polimerizar, da lugar a la formación de un conglomerado terapéutico integrado por una matriz de resina y un polímero fibroso biológico que es el colágeno (Pashley y Carvalho, 1997; Nakabayashi y cols., 1995). Este conglomerado, de resina adhesiva polimerizada, de colágeno mezclado con resina y cristales de hidroxiapatita encapsulados por resina, ofrece una unión duradera y resistente al ataque ácido (Nakabayashi y cols., 1982; Tay y cols., 1994). Nakabayashi y cols. (1982) demostraron *in vivo* la presencia de la capa híbrida.

Para conseguir una buena adhesión micromecánica y el sellado de la dentina, la resina tiene que infiltrar el colágeno expuesto de la dentina intertubular e intratubular para formar los *tags* de resina junto con una capa híbrida continua (Nakabayashi y cols., 1982; Pashley y Carvalho, 1997). Tras la desmineralización, las fibras del colágeno de

la dentina peritubular adquieren un patrón predominantemente circular, permitiendo la difusión lateral de la resina a los espacios interfibrilares (Perdigão y cols., 1995), lo que posibilita la hibridación de la dentina peritubular, que será máxima en las 2-3 micras más superficiales de los *tags* de resina (Pashley y Carvalho, 1997).

La infiltración intratubular de las resinas formará *tags* de resina que, asumiendo que se unen firmemente a las paredes de los túbulos (Pashley y Carvalho, 1997), los sellarán (Tay y cols., 1994; Nakabayashi y cols., 1995), previniendo la microfiltración y bloqueando la sensibilidad, además de contribuir a la retención de la restauración. La formación de los *tags* de resina se ve dificultada por la presencia del fluido dentinario (Tay y cols., 1996) que genera una presión intrapulpal junto con la presencia de núcleos minerales como en el caso de la dentina esclerótica (Pashley y Carvalho, 1997).

Además, la mayoría de los túbulos contienen ramas laterales múltiples que se irradian de 2 a 6 micras desde a luz tubular, ofreciendo una nueva vía para la hibridación tubular (Nakabayashi y Pashley, 1998). Esto permite la formación de *tags* de resina laterales (Perdigão y cols., 1995), que han sido propuestos como un factor potencialmente contribuyente a la adhesión micromecánica a la dentina (Tay y cols., 1996). Aunque los *tags* laterales no pueden contribuir mucho a la retención de las resinas por su pequeño tamaño, pueden ser decisivos a la hora de facilitar la infiltración de los monómeros dentro de la mitad más profunda de la zona desmineralizada (Nakabayashi y Pashley, 1998).

Según Gwinnet (1993) la adhesión total de los adhesivos a la dentina resulta de la suma de los efectos individuales, no solo de la formación de los *tags* de resina y la

capa híbrida, sino incluyendo un tercer mecanismo que sería la adhesión superficial. Esta adhesión superficial no consistiría más que en el contacto entre la resina y la capa de dentina parcialmente desmineralizada (Gwinnet, 1993). La retención la proporcionarían las irregularidades de la superficie y sería una unión mecánica a tejido mineral.

Según Pashley (1995) la resistencia adhesiva depende de la profundidad dentinaria que penetre el adhesivo y de su resistencia. Se asume que las diferencias que existen entre la densidad tubular y el área de dentina sólida entre la dentina profunda y la superficial, condicionan la resistencia adhesiva. En una situación ideal, al haber menos túbulos en la dentina superficial que en la profunda, la mayor parte de la fuerza de adhesión se debería a la infiltración de la resina dentro de la dentina intertubular. En la dentina profunda los túbulos dentinarios son mucho más abundantes; por eso, la infiltración intratubular de las resinas sería la responsable de la mayor parte de la retención total y del sellado (Pashley y Carvalho, 1997).

Los *tags* de resina generarán retención mecánica, simplemente porque infiltran la dentina desde diferentes direcciones aportando una retención que no es paralela. De tal modo, que no hay un patrón posible de remoción, a no ser que algunos *tags* se fracturen (Pashley y Carvalho, 1997). Idealmente los *tags* de resina se adherirían a las paredes del túbulo lo suficientemente fuerte como para exceder la resistencia cohesiva de la resina adhesiva; de este modo, la dentina siempre quedaría sellada. Este modelo no considera el grosor de la capa híbrida ni la longitud de los *tags*, factores determinantes de la resistencia adhesiva final, puesto que los factores principales están relacionados

con la porosidad del substrato adhesivo y la resistencia de la resina adhesiva (Pashley y cols., 1995).

Hay que destacar que el mojado de la superficie de la dentina por los monómeros es un paso inicial necesario en la adhesión, pero por sí solo no es suficiente para garantizar una adhesión exitosa, porque no asegura la penetración de los monómeros dentro de la superficie. La permeabilidad de la dentina intertubular desmineralizada a los monómeros es también una variable crítica en la adhesión a este tejido (Nakabayashi y cols., 1992)

I.3.4. Composición química de los sistemas adhesivos actuales.

El principal objetivo de los sistemas adhesivos es proporcionar retención a las obturaciones realizadas con materiales basados en resina. Además de tener unas buenas propiedades mecánicas, debido a la contracción de polimerización de las resinas, se hace necesaria una buena adhesión a los tejidos dentarios para prevenir la separación de ambos sustratos a lo largo de los márgenes de la restauración (Gaengler y cols., 2004).

La capacidad de los sistemas adhesivos dentinarios está basada en un mecanismo de adhesión doble. El primero consiste en la adhesión al esmalte y a la dentina, y el segundo el adhesivo se une a la restauración de resina compuesta. Este último es un proceso de co-polimerización de los dobles enlaces (-C=C-) en la capa de resina inhibida. La unión a esmalte y dentina es una adhesión micromecánica que se asume como principal mecanismo de adhesión (Van Meerbeek B y cols., 2001).

Considerando los mecanismos de adhesión anteriormente expuestos, se pueden definir algunos requisitos para los sistemas adhesivos:

- Tras la desmineralización del tejido se produce la infiltración y polimerización de la resina. Como una consecuencia de la eliminación del barrillo dentinario junto con la desmineralización del esmalte y la dentina, se hacen necesarias una buena humectabilidad, difusión, penetración y polimerización de los componentes de la resina.
- La unión química se podría conseguir con la adición de monómeros específicos con mayor afinidad por la hidroxiapatita.
- La co-polimerización suficiente entre el adhesivo y el material restaurador basado en resina para proporcionar una buena adhesión entre ambos (Vand Landuyt y cols., 2007).

La composición de los adhesivos tiene la finalidad de facilitar y producir los procesos antes mencionados. Los sistemas adhesivos se pueden clasificar en dos grupos principales: sistemas adhesivos de grabar y lavar (*Etch and rinse*) y los sistemas adhesivos autograbadores (*self-etch*). Todos ellos contienen ingredientes similares, independientemente del número de botes en el que consista el sistema adhesivo.

Tradicionalmente, los adhesivos contienen monómeros de resina acrílica, solventes orgánicos, iniciadores e inhibidores y, algunas veces, partículas de relleno. Es evidente que cada componente tiene una función determinada.

Componentes resinosos.

Con el fin de asegurar un buen enlace covalente entre el adhesivo y el material restaurador basado en resina, los sistemas adhesivos contienen monómeros de resina similares a los que poseen dichos materiales. Las resinas polimerizadas en los adhesivos se denominan matriz y tiene como función proveer de continuidad y propiedades mecánicas al adhesivo polimerizado. Los monómeros se pueden considerar como los componentes más importantes del adhesivo; son los constituyentes “clave”. Básicamente se pueden distinguir dos tipos de monómeros: los monómeros entrecruzadores que tienen dos grupos polimerizables o más (Coessens V y cols., 2001), y la mayoría de los monómeros funcionales que tienen un grupo químico especial, llamado grupo funcional; este producirá polímeros lineales durante la polimerización, en contraste con los entrecruzadores que formaran polímeros cruzados. Estos polímeros cruzados proporcionan mejores propiedades mecánicas y son importantes para la resistencia de la resina adhesiva (Sheldon, 1982). Algunos monómeros tienen una estructura molecular más compleja, con varios grupos polimerizables y funcionales (Odian, 2004; Atai y cols 2004).

La estructura de los monómeros se puede dividir en tres partes distintas: uno o más grupos polimerizables unidos por un espaciador y un grupo funcional.

Existen diferentes clases de grupos polimerizables: los grupos acrilatos y, especialmente, los metacrilatos que son los más comunes. La ventaja de los sistemas acrílicos es su fácil reacción de polimerización y sus carácter inodoro e incoloro (Odian, 2004). La principal diferencia entre los grupos acrilatos y metacrilatos es su reactividad.

Los acrilatos con su doble enlace son mucho más reactivos y pueden producir problemas de biocompatibilidad (Peutzfeldt, 1997). Los metacrílicos son menos sensibles a la inhibición por oxígeno (Lee TY y cols., 2004). Ambos tipos de monómero son sensibles a la degradación en agua (hidrólisis) del grupo éster (Salz y cols, 2005). Se ha diseñado un nuevo grupo de monómeros que son las metacrilamidas que tienen un grupo amida ($R_1\text{-CO-NH-R}_2$) en vez de un grupo éster, que los hace más resistentes al agua (Salz y cols. 2005).

El espaciador del monómero tiene la función de mantener los grupos funcional y polimerizable bien separados, y además la importante función de influir en las propiedades del monómero y las del polímero resultante (Nishiyama y cols., 2004). El espaciador es normalmente una cadena alquílica, pero puede contener otros grupos. La polaridad del espaciador determina la solubilidad de los monómeros en agua y en otros solventes. La hidrofilia del grupo espaciador puede causar absorción de agua, que aumentará la susceptibilidad a la hidrólisis de los monómeros así como la plastificación y decoloración de la resina curada. El tamaño del espaciador determina la viscosidad del monómero y su capacidad de humectar y penetrar. También influye en la flexibilidad de la molécula.

El grupo funcional de los monómeros usualmente exhibe propiedades hidrofílicas, así se le proponen varias finalidades: aumentar la humectabilidad y desmineralización de la dentina, liberar flúor o actuar como antibacteriano. Como promotores de la adhesión, estos monómeros incrementan la fuerza de adhesión a dentina mediante sus propiedades hidrofílicas (Watanabe y cols, 1994). Los grupos funcionales más comunes en los monómeros comercializados son fosfatos, ácido

carboxílico y grupos alcohol. Los fosfatos y los carboxilos son capaces de disociarse en el agua, liberando protones, y de producir una reacción ácido-base, realizando una desmineralización de la superficie cuando se aplican en suficiente concentración. La agresividad del grabado estará de acuerdo a la acidez de estos grupos. Dependiendo de muchos factores, como su carácter hidrofílico, los monómeros metacrílicos son susceptibles de hidrólisis en soluciones acuosas.

El grado de conversión en los sistemas adhesivos simplificados es menor (Nunes, y cols., 2006). La polimerización es inhibida por varios factores tales como la presencia de oxígeno (Gauthier, y cols., 2005), la presencia de agua intrínseca de la dentina y la presencia de solvente residual en el adhesivo (Nunes y cols., 2005; Cardoso y cols, 2005).

Actualmente se está estudiando la biocompatibilidad de los monómeros de resina. Varios trabajos mostraron que los monómeros residuales pueden diluirse en la saliva después de la polimerización y que la degradación de la resina puede permitir la liberación de monómeros dentro de la cavidad oral (Engelmann y cols., 2004). Muchos monómeros pueden ejercer otros efectos tóxicos, además de citotoxicidad, como posibles trastornos endocrinos (Nomura y cols., 2003).

Existen muchos monómeros que son utilizados en los sistemas adhesivos. Entre los monómeros más usados está el ácido metacrílico (MA). Este es un potente corrosivo e irritante debido a su fuerte acidez y por ello puede penetrar rápidamente por los guantes y causar en la piel reacciones alérgicas. El Metil Metacrilato (MMA) es uno de

los monómeros más antiguos y se añade a los adhesivos muy esporádicamente; es altamente alergénico (Andreasson y cols., 2003).

El Hidroxietilmetacrilato (HEMA) es un monómero pequeño. Su uso es debido a su buena biocompatibilidad (Geurtsen, 2000), incluso con su alto potencial alergénico (Paranjpe, y cols., 2005). El HEMA sin polimerizar es un fluido soluble en agua, etanol y o acetona. Es capaz de evaporarse de la solución adhesiva, pero en muy pequeñas cantidades (Pashley y cols, 1998). Otra característica importante del HEMA es su hidrofilia que lo hace un excelente promotor de la adhesión, mediante la mejora de la humectabilidad de la dentina y aumentando la fuerzas de unión (Nakaoki y cols, 2000). Tanto polimerizado como en monómero absorbe agua, de forma que cuando está incluido en una cadena polimérica exhibe su hidrofilia permitiendo la sorción de agua (Burrow y cols, 1999).

Entre los dimetacrilatos los más frecuentes son el Bisfenol A Glicidilmetacrilato (Bis-GMA), el Uretanodimetacrilato (UDMA) y el Trietilenglicoldimetacrilato (TEGDMA), que están directamente relacionados con las propiedades mecánicas del sistema adhesivo. Estos monómeros están caracterizados por su hidrofobia, que los hace insolubles en agua. Esto previene la sorción de agua después de la polimerización. Sin embargo, es inevitable alguna sorción de agua debido a la polaridad de la molécula y a los grupos hidroxilo. A menudo, las resinas adhesivas son una mezcla de monómeros entrecruzadores, y cantidades relativas de Bis-GMA, TEGDMA y UDMA que tendrán una gran influencia en la viscosidad de la resina sin polimerizar y en las propiedades mecánicas de la resina curada (Asmussen and Peutzfeldt, 1998).

El Bis-GMA es altamente viscoso, debido a su alto peso molecular, favoreciendo una baja contracción de polimerización y un rápido endurecimiento (Peutzfeldt, 1997). Los dos grandes anillos aromáticos en su espaciador hacen a dicho monómero muy rígido, lo que tiene un efecto negativo en el grado de conversión, ya que los grupos metacrilatos tienen dificultades para encontrarse. Por lo tanto, se necesita su mezcla con otros monómeros de menor peso molecular para no comprometer la polimerización. Así el UDMA, EGDMA o TEGDMA se usan como diluyentes. El TEGDMA se mezcla con el Bis-GMA para aumentar el grado de conversión y además reduce la resistencia a la flexión del polímero resultante (Asmussen y Peutzfeldt, 1998). El UDMA, también llamado UEDMA es el más común en los sistemas adhesivos. Tiene baja viscosidad y se usa solo o en combinación con TEGDMA o Bis-GMA.

Sistemas iniciadores.

Los sistemas adhesivos deben ser polimerizados antes de aplicar el composite; primero para obtener un grado de polimerización óptimo y una buena resistencia mecánica de la capa de adhesivo (Yoshida y Greener, 1994), y segundo para prevenir el adelgazamiento de la capa de adhesivo por la aplicación del composite.

Para que esta reacción de polimerización se produzca, se requieren pequeñas cantidades de iniciadores. Estos son generalmente moléculas que poseen uniones atómicas con una baja energía de disociación que pueden formar radicales bajo ciertas condiciones (O'dian G, 2004). La cantidad de iniciador está directamente relacionada con las propiedades mecánicas de la resina polimerizada (Sun and Chae, 2000).

Los radicales pueden producirse mediante una variedad de métodos: térmicos, fotoquímicos y redox (O'dian G, 2004). En los sistemas adhesivos, los más usuales son los fotoiniciadores y los redox. Los fotoiniciadores absorben la energía electromagnética, mientras los iniciadores redox necesitan la mezcla con otro componente (quimipolimerización o autopolimerización). La principal ventaja de la fotoiniciación de la polimerización es el fácil control de la reacción.

La cantidad de iniciador añadida al sistema adhesivo depende del tipo de iniciador y del sistema adhesivo, pero usualmente es muy pequeña, en un rango del 0.1% al 1%. La concentración óptima de iniciador/co-iniciador en los adhesivos depende de muchos factores, tales como la solubilidad de estos en el monómero, la características de absorción y la compatibilidad con la unidad de luz usada, su foto-reactividad y biocompatibilidad (Van Landuyt y cols, 2007).

El fotoiniciador más popular en los adhesivos es la canforoquinona, que es combinada con un co-iniciador. Después de la excitación con luz, un complejo es excitado para formar radicales mediante la abstracción de hidrógenos. Las aminas son donantes eficientes de hidrógenos y son muy usadas. La canforoquinona es un excelente fotoiniciador que absorbe longitudes de onda en un espectro de 360-510 nm. Cuando se disuelve en agua, la absorción es de longitudes de onda más bajas de 457 nm, mientras que su disolución en medios menos polares, como el TEGDMA, da lugar a la absorción en un espectro de 474 nm (Moss y cols, 2002). La canforoquinona es un polvo cristalino, y sus moléculas son solamente insolubles en agua. Una de sus principales desventajas es su color amarillo-marrón que tiñe la resina.

Existen otros fotoiniciadores como el 1-fenyl-1,2 propanediona (PPD) y los óxidos acilfosfina que también son usados en algunos sistemas adhesivos.

Entre los iniciadores químicos, el más común es el peróxido de benzoilo (BPO) que reacciona con una amina terciaria como co-iniciador. Es incoloro, sólido cristalino, es insoluble en agua, pero soluble en etanol y acetona. Como todos los peróxidos sufren fotólisis si se expone a la luz, los sistemas adhesivos quimiopolimerizables se deben de almacenar siempre en la oscuridad. Las temperaturas elevadas también propician la formación de radicales, por ello se recomienda su almacenamiento en el frigorífico (O'dian G, 2004). El peróxido de benzoilo en agua sufre una rápida hidrólisis; por ello no se incluye en los sistemas adhesivos basados en agua, excepto si se almacena en otro bote distinto a esta. Otro iniciador químico es el Tri-n-butil borano (TBB) pero su uso está restringido a los cementos adhesivos.

Inhibidores

Los inhibidores añadidos a las resinas dentales son actualmente oxidantes capaces de eliminar radicales libres originados en una iniciación prematura de la reacción. Especialmente en condiciones extremas de almacenamiento, como altas temperaturas, algunas moléculas iniciadoras pueden descomponerse o reaccionar espontáneamente para formar radicales. Los inhibidores y retardadores previenen la iniciación espontánea y la propagación de la polimerización mediante la neutralización de esos radicales (O'dian G, 2004). La cantidad de inhibidores requerida depende de la inestabilidad inherente de los monómeros en el adhesivo. Los más frecuentes en los

sistemas adhesivos son el butilato hidroxytolueno, el butilhidroxitolueno y el monometil eter hidroquinona, esta última es la preferida para resinas hidrofílicas.

Solventes

La adición de solventes a las resinas es indispensable para la composición que los sistemas adhesivos necesitan para adherir a la dentina. La naturaleza húmeda de la dentina solamente permite una buena humectabilidad cuando se aplica un adhesivo hidrofílico (Watanabe y cols, 1994). Mediante la adición de monómeros hidrofílicos por un lado, y un solvente por el otro, el comportamiento de humectabilidad de los adhesivos mejora drásticamente (Tay and Pashley, 2003). La baja viscosidad de los *primers* y las resinas adhesivas es debida en parte a la disolución de los monómeros en un solvente, aumentando su habilidad de difusión en la estructura microrretentiva de la superficie. En los sistemas adhesivos de grabar y lavar, la principal función del solvente, presente dentro del *primer*, y dentro de la combinación *primer*-adhesivo (sistemas de un solo bote) es promover la buena penetración de los monómeros dentro de la red de colágeno en la dentina desmineralizada (Nakajima y cols., 2002).

Los solventes son sustancias capaces de disolver o dispersar una o más sustancias (Morrison y Boyd 1973). Las moléculas del soluto se separan y los espacios entre ellas son ocupados por las moléculas del solvente. La energía requerida para romper las uniones entre las moléculas del soluto es suplida por la formación de nuevas uniones entre las partículas del soluto y las moléculas del solvente. Los químicos han clasificado los solventes en tres categorías de acuerdo a su polaridad: prótico polar, aprótico bipolar y solventes apolares. El agua y el etanol son solventes próticos polares,

mientras que la acetona es aprotico polar. En los sistemas adhesivos los solventes más usados son el agua, la acetona y etanol; el uso de estos solventes orgánicos en los adhesivos se explica por su neutralidad, su disponibilidad y su biocompatibilidad.

Las características más importantes de un solvente son su momento bipolar, su constante dieléctrica, su punto de ebullición, su presión de vapor y su capacidad de unión por hidrógeno. La presión de vapor asegura la buena evaporación del solvente después de su aplicación en el tejido dental (Ikeda y cols., 2005). El secado con aire facilita esta evaporación pero puede disminuir el grosor de la capa de adhesivo (Zheng y cols., 2001). El solvente remanente entorpece la polimerización debido a la dilución de los monómeros formando pompas y aumentando la permeabilidad de la capa de adhesivo (Hashimoto y cols., 2004).

El agua es un solvente muy polar con una constante dieléctrica alta. Su capacidad de disolver depende de su capacidad de formar puentes de hidrógeno. De todas formas es un solvente deficiente de sustancias orgánicas, que son usualmente muy hidrofóbicas. Es indispensable como solvente en los adhesivos autograbadores, ya que es necesaria para la ionización de los monómeros. En los adhesivos de grabar y lavar el agua es capaz de re-expandir la red de colágeno colapsada (Carvalho y cols., 2003), ya que gracias a su alta constante dieléctrica tiene la capacidad de romper los enlaces de hidrógeno entre las fibras de colágeno (Nakaoki y cols., 2000). Pero debido a su baja presión de vapor y a su alta temperatura de ebullición es difícil eliminarla del diente después de su aplicación. De todas formas, Pashley y cols. (1998) mostraron que monómeros como el HEMA, disminuyen la presión de vapor del agua incluso más, pudiendo interferir con la eliminación de los remanentes de agua. Tay y cols (1998)

mostraron que el exceso de agua en las resinas adhesivas compromete la fuerza de adhesión de los adhesivos debido al atrapamiento del agua en burbujas (fenómeno de sobremojado).

El etanol es un solvente polar que forma enlaces de hidrógeno con los solutos. De todas formas, debido a su baja constante dieléctrica, el etanol es también un solvente apropiado para los solutos menos polares. Su alta presión de vapor comparada con el agua permite una mejor evaporación mediante el secado con aire (Van Landuyt y cols., 2007). Usualmente, el etanol es usado junto con agua como co-solvente. Además, la mezcla de agua-etanol es conocida como aceotrópica (Morrison y cols., 1973), lo que implica que la formación de puentes de hidrógeno entre el agua y el etanol produce una mejor evaporación de este agregado que del agua pura. Esto aumenta la desecación de la superficie. Maciel y cols. (1996) mostraron que el etanol tiene cierto efecto en la rigidez del colágeno desmineralizado. Esto explica por qué el etanol puede mantener los espacios interfibrilares después de la evaporación del solvente (Carvalho y cols., 2003).

La acetona tiene un alto momento bipolar y una relativamente baja constante dieléctrica, lo que le permite disolver compuestos polares y apolares. La acetona es una buena elección como solvente en los sistemas adhesivos que combinan componentes hidrófilos con hidrófobos. Su alta presión de vapor es su principal ventaja, pero disminuye la vida media de los sistemas adhesivos que la contienen. La acetona también puede ir de co-solvente con el agua, aunque la formación de puentes de hidrógeno con los grupos cetona es mucho más baja. La acetona tiene mucha facilidad para evaporar el agua debido a su momento bipolar y su excelente capacidad de evaporación (Abate y cols., 2000). Los sistemas adhesivos que contienen acetona deben de ser aplicados en

superficies de dentina húmeda para evitar el colapso de la red de colágeno desmineralizada. Considerando la baja capacidad de formación de enlaces de hidrógeno de la acetona, esta no es capaz de reexpandir el colágeno desmineralizado (Pashley y cols., 2002).

I.3.5. Clasificación de los sistemas Adhesivos

Al comienzo del desarrollo de la odontología adhesiva, en 1955, Buonocore intentó una nueva técnica que no tuvo éxito clínico debido a la pobre unión que las resinas de la época tenían.

En 1965, Gwinnett y Buonocore describieron *in vitro* un fenómeno adhesivo en dentina semejante al del esmalte. En 1979 Fusuyama prueba un sistema adhesivo constituido por Bis-GMA y fenil-metacriloxietil-fenil-hidroxifosfato. Fusuyama, en 1980, publicó resultados de la acción del ácido fosfórico al 40% simultáneamente sobre esmalte y dentina, idea que difundió como grabado total, basado en la formación de los *tags* de resina que penetraban dentro de los túbulos dentinarios (Fusayama 1993).

La clasificación de los sistemas adhesivos más comúnmente utilizada es la que se basa en la cronología de la aparición y los separa en generaciones. Sin embargo, esta clasificación carece de soporte científico, no aclara de forma objetiva el número de pasos clínicos realizados durante la aplicación de estos adhesivos, ni tampoco como interactúan con el sustrato (Van Meerbeek y cols., 1999).

Van Meerbeek y cols., (1998) propusieron una clasificación de los sistemas adhesivos basada en el modo de interacción con el sustrato (barrillo dentinario) o mecanismo de adhesión, contemplando también el número de pasos clínicos requeridos durante su aplicación:

1. Removiendo completamente el barrillo dentinario (adhesivos con 2 o 3 pasos);
2. Modificando el barrillo dentinario e incorporándolo en el proceso de unión (adhesivos con 1 o 2 pasos) ;
3. Disolviendo el barrillo (adhesivos con 1 o 2 pasos).

Nosotros, para simplificar la clasificación vamos a estudiar por un lado los sistemas de adhesión que eliminan el barrillo dentinario (de grabar y lavar) y por otro lado los que lo incorporan a la capa híbrida (autograbadores)

1.3.5.1 Sistemas adhesivos de grabar y lavar

Estos son la mayoría de los sistemas adhesivos utilizados actualmente. En su presentación inicial, estos materiales se aplicaban en tres pasos: grabado del sustrato, imprimación y aplicación de la resina adhesiva.

Una vez desmineralizados los tejidos, la función de los imprimadores (*primers*) es transformar la superficie dental hidrofílica en hidrofóbica para conseguir así la unión de la resina adhesiva. Para ello, estos agentes contienen en su composición monómeros polimerizables con propiedades hidrofílicas, como el HEMA, disueltos en acetona, agua

y/o etanol. Estos sirven como vehículos para transportar los monómeros a través del tejido grabado (Inoue y cols., 2000).

Tay y cols., (1996) describieron los sistemas adhesivos que contienen solventes orgánicos volátiles, como el etanol y la acetona. Estos se fundamentan en su capacidad para desplazar el agua remanente, facilitando así la penetración de los monómeros polimerizables a través de las microporosidades generadas por el grabado ácido en la estructura prismática del esmalte, dentro de los túbulos dentinarios abiertos y a través de los nanoespacios de la red colágena en la dentina (Tay y cols., 1996a). De esta forma se conseguiría una infiltración completa de los tejidos, al crearse una estrecha relación física con la microestructura tisular, siempre que los tejidos estén previamente humedecidos (Tay y cols., 1996b).

Los imprimadores solubles en agua contienen fundamentalmente HEMA y ácido polialquénico. Estos materiales basan su mecanismo de acción en que, tras su aplicación y al secar la superficie con aire, el agua se evapora, aumentando la concentración de HEMA. Este principio de diferencia de volatilidades del solvente frente al soluto es muy importante. El agua tiene una presión de vapor mucho más alta que el HEMA; de hecho, a presión atmosférica el HEMA se considera casi “no volátil”. Esto permite su retención, puesto que su solvente, el agua, se evapora durante el secado (Nakabayashi y Pashley, 1998). El procedimiento de imprimación termina con una dispersión, utilizando un chorro suave de aire, que tiene la finalidad de remover el solvente y dejar una película homogénea y brillante en la superficie. El tercer paso consiste en la aplicación de un agente de unión hidrofóbico, el cual se unirá químicamente con la resina compuesta, aplicada a continuación.

El resultado de este procedimiento de tres pasos es lo que se llama generalmente hibridación, formación de la capa híbrida (Nakabayashi y cols., 1982) o zona de interdifusión (Van Meerbeek y cols., 1993), además de la formación de *tags* de resina.

Con el surgimiento de los adhesivos en un sólo bote (*one-bottle*), el procedimiento convencional de aplicación de los sistemas adhesivos de tres pasos que eliminan de barrillo dentinario se redujo a dos pasos, debido a la combinación de los agentes imprimador y de unión en una sola solución. Básicamente el actual mecanismo de adhesión empleado por estos sistemas simplificados no difiere del realizado por sus precursores de tres pasos, pero son más sensibles a la técnica.

A pesar de que el procedimiento clínico, utilizándose estos sistemas de dos pasos, es más sencillo, el tiempo de aplicación no ha sido sustancialmente reducido, ya que se recomienda la aplicación de estos materiales en varias capas, sobretodo de los adhesivos con alto contenido en acetona, para garantizar un espesor suficiente de adhesivo en la superficie de la capa híbrida que desarrolla el papel de amortiguador de tensiones. El nanorelleno incorporado a algunos de estos sistemas también colabora para el establecimiento de una capa de resina uniforme que estabilice la capa híbrida.

Uno de los sistemas adhesivos de grabar y lavar de tres pasos más utilizado ha sido el Single Bond Multipurpose y de los sistemas de dos pasos utilizados actualmente son el Excite (Vivadent), el Optibond Solo Plus (Kerr), el Syntac Single-Component (Vivadent), el Prime & Bond NT (Dentsply DeTrey), el Scotchbond 1 (Single Bond) (3M-ESPE) y el One Step (BISCO).

Estos sistemas adhesivos necesitan que se aplique una técnica de adhesión húmeda al no realizarse el paso de imprimación de forma independiente. El tejido debe mantenerse húmedo para evitar que, en el caso de la dentina, el colágeno desmineralizado se colapse impidiendo la infiltración completa del adhesivo. Sin embargo, para el clínico, conseguir el grado de humedad óptimo es muy difícil y por ello esta técnica se considera bastante sensible al operador (Frankenberger y cols., 2000).

Estudios hechos en esmalte grabado húmedo y grabado seco demostraron que no había diferencias significativas entre los valores de resistencia adhesiva obtenidos, utilizándose resinas adhesivas hidrofílicas con acetona (Moll y cols., 2002) o etanol-agua como solventes (Jain y Stewart, 2000).

El problema de la técnica de adhesión húmeda es cuantificar clínicamente el grado de humedad, sobre todo en la dentina. Es fácil distinguir cuándo la superficie está seca, pero no lo es tanto el diferenciar si está o no demasiado húmeda. Esto conlleva el riesgo de que los monómeros hidrófilos del imprimador no puedan desplazar toda la humedad de la superficie dentinaria, situación que es clínicamente real. Tay y cols. (1996 a y c) lo denominaron fenómeno de sobremojado (*overwetting*), documentándolo ultramorfológicamente. Este exceso de agua afecta a la polimerización de la resina dentro de la capa híbrida, originando una fase de separación de los componentes monoméricos hidrófilos e hidrófobos, que da lugar a la aparición de pompas y formaciones globulares en la interfase dentina-resina. Estas deficiencias en la interfase

indudablemente debilitan la unión y dan lugar a un sellado incompleto de los túbulos (Tay y cols., 1996 a y b).

Por otro lado, cuando los adhesivos libres de agua se aplican en condiciones secas, se produce una infiltración incompleta de la dentina, formándose lo que Tay y cols. (1996 b) definieron como capa híbridoide.

Para evitar los fenómenos adversos, tanto del exceso de humedad como de secado de los sustratos, se recomienda utilizar una técnica de secado por absorción, removiendo el excedente con una bolita de algodón seca o papel secante después de acondicionar (Kanca, 1992; Tay y cols., 1996a). Una superficie suficientemente húmeda se evidencia clínicamente por una superficie uniformemente brillante en la que no hay agua en movimiento.

A pesar del éxito clínico de la técnica de grabado total, recientemente han aparecido nuevos sistemas adhesivos cuyo uso no requiere del grabado ácido previo de las superficies, con el fin de simplificar el procedimiento adhesivo (Tanumiharja y cols., 2000) y reducir la sensibilidad de la técnica, sobre todo en lo que se refiere al grado de humedad de la dentina (Pashley y Tay, 2001). Estos adhesivos son los sistemas autograbadores, los cuales serán comentados en el apartado siguiente.

1.3.5.2. Sistemas adhesivos autograbadores

Estos se pueden dividir en dos grupos; los que modifican el barrillo dentinario y los que lo disuelven.

a) Sistemas adhesivos que modifican el barrillo dentinario

Los sistemas adhesivos modificadores del barrillo dentinario evolucionaron a partir de la idea de que este barrillo funciona como una barrera natural para la pulpa, protegiéndola contra una invasión bacteriana e impidiendo que el fluido dentinario pueda afectar la eficacia de la adhesión.

Clínicamente, este grupo de materiales incluyen, básicamente, a los antiguos sistemas adhesivos que requerían un grabado ácido selectivo del esmalte. Muchos de estos materiales ya no se utilizan debido a su ineficacia clínica. Sin embargo algunos materiales usados actualmente, como es el caso de los agentes imprimadores que se aplican previamente a la colocación de resinas modificadas por poliácidos o compómeros también están incluidos en este grupo (Inoue y cols., 2000).

La ineficacia de estos primeros sistemas adhesivos que se unían directamente al barrillo dentinario se debe al hecho de que no conseguían penetrar a través de él. La máxima resistencia al cizallamiento que se obtenía con estas agentes era de 5 MPa. El análisis posterior de las superficies adhesivas mediante microscopía electrónica de barrido mostró que estaban cubiertas de partículas de barrillo dentinario. Esto significaba que los 5 MPa se correspondían con los valores de las fuerzas cohesivas de las propias partículas del barrillo. La verdadera fuerza de adhesión interfacial entre la resina y la parte más superficial del barrillo era superior a 5 MPa, pero desconocida (Inoue y cols., 2000).

Dada la limitada resistencia del barrillo, las dos opciones que quedaban eran eliminarlo o desarrollar agentes que penetraran a través del mismo hacia el sustrato dentario subyacente. Ambos procedimientos se han aplicado posteriormente con éxito (Watanabe y cols., 1994; Tay y cols., 2000).

b) Sistemas adhesivos que disuelven el barrillo dentinario

Estos son los actualmente conocidos como autograbadores, que se caracterizan por presentar el procedimiento clínico más simplificado. Estos materiales disuelven el barrillo y simultáneamente desmineralizan la superficie del sustrato dentinario, y como no son lavados, el barrillo se incorpora al proceso de unión y se reducen los problemas asociados a la sensibilidad técnica (Fritz y Finger, 1999).

Tradicionalmente, los sistemas adhesivos diseñados para ser aplicados sobre el barrillo dentinario pueden hacerse ácidos de tres formas distintas. La primera utilizando monómeros resinosos metacrilados polimerizables que contienen moléculas de ácidos sulfónico, carboxílico, fosfórico o sus ésteres (Hasegawa y cols., 1989). La segunda incorporando minerales o ácidos orgánicos como aditivos a monómeros resinosos no ácidos hidrofílicos. La tercera mezclando minerales o ácidos orgánicos con monómeros ácidos hidrofílicos. En esta última estrategia pueden ser añadidos ácidos inorgánicos fuertes (ácido fosfórico), ácidos anhídridos o ácidos orgánicos no polimerizables (ácido cítrico) a monómeros resinosos ácidos para aumentar la acidez de la mezcla y mejorar así el grabado del esmalte (Tay y Pashley, 2001).

El concepto de adhesión a los sustratos dentarios cubiertos por barrillo dentinario no es nuevo, pero no ha sido reconocido como una técnica exitosa hasta hace poco. El uso de los sistemas adhesivos autograbadores está basado en las experiencias adquiridas debido a las deficiencias de las primeras generaciones de los adhesivos que se adherían al barrillo dentinario (Tay y Pashley, 2001). La primera estrategia que utiliza monómeros resinosos acídicos basados en metacrilatos es atractiva puesto que el ácido y los grupos funcionales polimerizables están dentro de la misma molécula. Estos monómeros inevitablemente penetran en toda la zona desmineralizada del sustrato cubierto por barrillo. Fosfonatos como el ácido vinilfosfónico y el ácido vinilbencilfosfónico se usaron durante más de veinticinco años como adhesivos en el esmalte y en la dentina (Anbar y cols., 1974). Sin embargo, fueron desarrollados cuando el concepto de sistema adhesivo vigente era que las resinas se quelaban con el calcio del sustrato. Por tanto, estos ácidos eran neutralizados para maximizar su potencial quelante, lo que anulaba su efecto potencial acondicionador. Los ésteres del ácido fosfórico, como el fenil-P también fueron investigados como componentes potenciales de las adhesivos dentinarios (Wamauchi y cols., 1981).

Sin embargo, la concentración inicial de estos monómeros era del 5% en peso y la resistencia adhesiva era baja. Una serie comercial de imprimadores basados en ésteres fosfatos del dipentaeritritol-pentacrilato (PENTA) se desarrollaron también para la adhesión a la dentina cubierta por barrillo (Billington y cols., 1985). Puesto que estos imprimadores son ligeramente acídicos, no podían atravesar el barrillo y desmineralizar la dentina subyacente. Este fracaso en la desmineralización dio lugar a uniones débiles debido a la ausencia total de una auténtica capa híbrida en la dentina intertubular subyacente (Eick y cols., 1991). La resistencia adhesiva de estas primeras generaciones

de sistemas adhesivos era baja puesto que la unión establecida no excedía la adhesión del barrillo a la dentina.

El uso reciente de monómeros acídicos polimerizables con grupos funcionales del ácido fosfórico, como el fenil-P y el MDP ha aumentado su concentración desde un 5% original hasta un 20-30% (Hayakawa y cols., 1998). La mejora en el potencial grabador de los imprimadores autograbadores dio lugar a la formación de un complejo hibridado de un espesor muy reducido constituido por una zona superficial de barrillo dentinario hibridado y una capa híbrida subsuperficial auténtica (Watanabe y cols., 1994). A pesar de la presencia de un complejo hibridado delgado que generalmente es inferior a 2 μm , se han descrito valores de resistencia adhesiva iniciales altos a la dentina sana (Pereira y cols., 1999).

Los sistemas autograbadores actuales proporcionan grabado ácido e imprimación simultáneos del esmalte y la dentina, resultando una simplificación del procedimiento clínico de aplicación, debido a la reducción en el número de pasos y a la falta de necesidad de un lavado tras el grabado. Por esta razón, el uso de los sistemas adhesivos autograbadores parece prometedor; intenta evitar problemas clínicos importantes, como el colapso de las fibras colágenas debido al secado tras el grabado ácido de la dentina, o el fenómeno de sobremojado resultante de una eliminación insuficiente de la humedad de la superficie grabada en la técnica húmeda de adhesión (Tay y cols., 1994; Tay y cols., 1997).

La relación entre la profundidad de desmineralización y la extensión de la penetración de la resina es la clave para crear una capa híbrida de calidad. Una

infiltración pobre de la resina adhesiva dentro del sustrato desmineralizado deja nano-espacios dentro de la capa híbrida (Sano y cols., 1995; Spencer, 1999) y esta región puede ser susceptible de degradación por los fluidos orales (Sano y cols., 1999). En el caso de los sistemas autograbadores, como estos materiales desmineralizan la superficie del sustrato dentario y sus monómeros infiltran simultáneamente a través de las microporosidades generadas y a continuación se polimerizan *in situ*, teóricamente no hay diferencia entre la profundidad de desmineralización y la extensión de penetración de dichos materiales (Nakabayashi y Saimi, 1996). La profundidad de desmineralización durante la aplicación del adhesivo depende del tipo de monómero ácido, de la duración de la aplicación y de la composición del sustrato dentario (Miyazaki y cols., 2002).

Los adhesivos autograbadores se dividen en sistemas de dos pasos y sistemas de un solo paso ("*All-in-one*"). Los primeros se presentan en dos frascos separados conteniendo en uno de ellos el agente autograbador (monómeros ácidos y agentes imprimadores) y en el otro el agente de unión. Los de un solo paso combinan los pasos de grabado, imprimación y adhesión en una única solución.

En lo que se refiere a la composición, sustancias como el HEMA y el agua están presentes en casi todos los adhesivos autograbadores, además de moléculas ácidas como monómeros fosfatados y moléculas ácidas orgánicas. En todos los sistemas adhesivos autograbadores, el agua es un componente fundamental, ya que permite la ionización de los monómeros ácidos para que haya una desmineralización de los tejidos dentales duros.

I.3.6. Estado del arte de la adhesión a dentina con los sistemas adhesivos de grabar y lavar.

El grabado ácido de la dentina se usa como primer paso en la preparación de la superficie para mejorar la adhesión en una variedad de procedimientos en odontología restauradora. Después del grabado, la hidroxiapatita es eliminada, la red de colágeno intertubular queda expuesta y los adhesivos hidrofílicos son capaces de penetrar en este espacio y formar la llamada capa híbrida (De Souza y cols, 2005). La infiltración de un monómero de resina dentro de la dentina acondicionada químicamente es considerado esencial para aumentar la unión en la interfase resina-tejido dental (Gwinnett, 1993).

La capa híbrida representa un avance, la demineralización de la dentina da lugar a una estructura de fibras de colágeno sin soporte mineral, haciendo que la dentina sea susceptible a cualquier alteración física (Kanka, y cols, 1998). Manteniendo la dentina grabada en estado hidratado las fibras de colágeno permanecen expandidas, teóricamente permitiendo el acceso de la resina adhesiva por los microporos de la superficie. Como resultado de su mayor contenido acuoso, la superficie de dentina grabada no se puede secar demasiado ya que la red de colágeno se colapsa. Así como no puede estar demasiado húmeda, porque el agua limita la penetración de la resina (Toledano y cols., 2000). La técnica húmeda de adhesión es difícil de estandarizar clínicamente, y por eso es sensible a fallos de inadecuada manipulación clínica.

El colapso de la red debido al secado de la superficie de dentina grabada evita la filtración de los monómeros a través de la misma, incrementando la posibilidad de fallos adhesivos. Una infiltración incompleta de la resina puede crear porosidades dentro de la capa híbrida (propiciando nanofiltración), dejando colágeno expuesto en la

interfase resina-dentina. Este colágeno es susceptible de degradación por sustancias exógenas y endógenas del tejido, produciendo un fallo prematuro de la restauración. Este fallo podría ser debido o a la hidrólisis del colágeno y/o a la degradación de la resina polimerizada (Hashimoto y cols, 2000).

Por tanto, el papel de las fibras de colágeno en la adhesión a la dentina ha sido cuestionado. Algunos autores han publicado que el colágeno de la dentina no contribuye a la adhesión y puede, incluso, interferir con los mecanismos de adhesión debido a la estructura frágil de las fibras de colágeno después del grabado (Inaba y cols., 1995; Vargas, Cobb y Amstrong, 1997). La estabilidad de cualquier unión basada en estructuras proteicas en el tiempo está muy cuestionada (Gwinnett, 1994; Sano y cols., 1999; Carvalho y cols., 2000). La eliminación de las fibras de colágeno sin soporte podría tener un efecto beneficioso en la infiltración y difusión de los primers y adhesivos a través de la dentina (Prati, Chersoni y Pashley, 1999) y podría facilitar el acceso de las resinas adhesivas a un sustrato más permeable (Inaba y cols., 1995). Después de la desproteinización, la dentina se vuelve un sustrato más poroso con múltiples irregularidades capaz de permitir una retención mecánica (Vargas, Coob y Amstrong, 1997; Perdiago y cols., 1999).

Aunque la fuerza de unión a dentina se ha visto que es positivamente incrementada, en algunos estudios, con el uso de una solución de NaOCl (Saboia, Rodrigues, Pimenta, 2000; Wakabayashi y cols., 1994; Inai y cols., 1998; Phrukkanon y cols., 2000), otros publican resultados neutros (Gwinnett, 1994; Inai y cols.; 1998; Coli y cols., 1999), o incluso resultados negativos (Perdigao y cols., 2000; Saboia, Rodrigues y Pimenta, 2000; Frankerberger y cols., 2000; Inai y cols., 1998). Los resultados varían

dependiendo de la metodología (Cardosos, Braga y Carrilho, 1998), la composición del sistema adhesivo (que determina el modo de aplicación y la interacción química con la dentina), y las diferentes soluciones de NaOCl o incluso el modo de aplicación (Perdigao y cols., 2000). Así, la contribución del colágeno a la unión en dentina puede ser también considerada independientemente para cada sistema adhesivo.

La aplicación de NaOCl induce cambios morfológicos en la superficie de la dentina tratada; ésta superficie se enriquece de cristales de hidroxiapatita expuestos y puede resultar una interfase de adhesión más estable a lo largo del tiempo ya que es esencialmente mineral (Toledano y cols., 2005). Un factor adicional que contribuye al incremento de la eficacia adhesiva, en este supuesto, es el aumento de la porosidad del sustrato (Gwinnet y cols., 1996; Perdigao y cols., 1999). La rugosidad y el ángulo de contacto se incrementan (Wakabayashi y cols., 1994; Coli y cols., 1999; Perdigao y cols., 1999; Toledano y cols., 1999), se produce un agrandamiento de los túbulos (Inaba y cols., 1995; Perdigao y cols., 1999), se mejora la infiltración de la resina en la dentina tratada (Toledano y cols., 2000; Coli y cols., 1999) y se induce una posible interacción química en la interfase resina-dentina (Phurkkanon y cols., 2000).

Una de las propiedades atribuidas a la capa híbrida es la de absorción del estrés generado durante la contracción de polimerización de las resinas restauradoras. Este estrés generalmente se concentra en la interfase adhesiva y en caso de ser superior a la resistencia adhesiva fracasaría la unión. En una situación clínica esta puede causar problemas postoperatorios como hipersensibilidad, irritación pulpar, y caries secundarias (Zheng y cols., 2001, Unterbrick y Liebenberg, 1999). De este modo, la efectividad inicial y la longevidad de la interfase entre la resina compuesta y los tejidos

dentarios puede describirse como una relación entre la resistencia adhesiva y el estrés generado por la contracción de polimerización (Montes y cols., 2001).

La capa híbrida tiene un módulo de elasticidad relativamente bajo, en comparación con la resina restauradora y el tejido dentario, capaz de liberar el estrés de la contracción de polimerización permitiendo al material absorber y resistir la deformación y disminuir el efecto de una contracción rígida en la interfase (Labella y cols., 1999; Davidson y cols., 1984).

Clínicamente, el deterioro de los márgenes de las restauraciones de composite sigue siendo el factor responsable de la disminución de la vida útil de las restauraciones adhesivas (Van Meerbeek y cols., 2001). Por tanto, la evaluación de las propiedades de la interfase adhesiva a largo plazo es esencial, teniendo en cuenta que la adhesión entre la restauración y la estructura dental sólo es significativa si es duradera (Gwinnett y Yu, 1995; Burrow y cols., 1996).

II. OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo han sido los siguientes:

1. Evaluar el efecto del tratamiento de la dentina con ácido ortofosfórico al 36% y la aplicación de una solución de NaOCl al 5% durante 2 minutos tras el grabado en las características morfológicas de la dentina superficial y profunda mediante la medida de la rugosidad de la superficie y el ángulo de contacto formado por el agua y por el sistema adhesivo Syntact Sprint.
2. Estudiar la influencia del grabado ácido y el tratamiento con NaOCl al 5% durante 2 minutos tras el mismo sobre la dentina superficial y profunda en la fuerza de adhesión (resistencia a la cizalla) producida con el sistema adhesivo Syntact Sprint.
3. Observar las interfases de unión entre las dentinas superficial y profunda grabadas con ácido y grabadas y tratadas con NaOCl al 5% durante 2 minutos mediante microscopía electrónica de barrido.
4. Evaluar la capacidad de sellado marginal del sistema adhesivo Syntact Sprint en las interfases de dentina superficial y profunda con y sin aplicación de NaOCl después del grabado ácido mediante el test de microfiltración.

La hipótesis nula de este trabajo afirma que la profundidad de la dentina y el tratamiento de la superficie dentinaria con una solución de NaOCl al 5% durante 2 minutos después de grabada no afectan a la eficacia adhesiva, ni a la capacidad de sellado marginal del sistema adhesivo Syntac Sprint.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III.1. Material

En este estudio se usaron 70 terceros molares humanos sanos extraídos que se almacenaron en una solución de cloramina al 0,5% hasta, como máximo, 1 mes después de su extracción.

Se estudió el sistema adhesivo Syntact Sprint (Ivoclar-Vivadent, Schaan, Liechtenstein). La descripción del sistema adhesivo utilizado se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1. Descripción del sistema adhesivo *Syntact Sprint* (Ivoclar-Vivadent, Liechtenstein).

Adhesivo	Composición (según el fabricante)
<i>Syntact Sprint</i> (Ivoclar-Vivadent)	<p><i>Acondicionador ácido:</i> 37% H₃PO₄ espesante de sílice.</p> <p><i>Primer + resina adhesiva:</i> HEMA, dimetacrilato, Ácido poliacrílico modificado, Compuesto fluorado, agua.</p>

III.2. Caracterización de la superficie.

III.2.1. Medida del ángulo de contacto.

El sistema *ADSA* (*Axisymmetric Drop Shape Analysis*) es un programa que implementa un método numérico para la evaluación de la tensión superficial y el ángulo de contacto a partir de la geometría de la gota (Rotenberg y cols. 1983; Cheng y cols., 1990). El método *ADSA* ajusta las coordenadas de la gota obtenida por un tratamiento digital de imágenes a una ecuación teórica. Esta es la ecuación de capilaridad de Young-Laplace:

$$\Delta P = \gamma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right)$$

donde : ΔP = diferencia de presiones en la interfase

γ = tensión interfacial

$R_1 R_2$ = radios principales de curvatura

El método *ADSA* relaciona la técnica *Axisymmetric Drop Shape Analysis Profile* (*ADSA-P*) (Cheng y cols., 1990; Cheng y Neumann, 1992) y la técnica *Axisymmetric Drop Shape Analysis Contact Diameter* (*ADSA-CD*) (Li y cols., 1992; Cheng y cols., 1990; Skinner y cols., 1989).

ADSA-P determina la tensión superficial de un líquido a partir de la geometría de un menisco axisimétrico formado por una gota pendiente.. A partir del perfil de la gota, *ADSA-P* busca el mejor ajuste entre las cordenadas obtenidas experimentalmente y las cordenadas teóricas, de forma que se complete la ecuación de capilaridad de Laplace.

Para conseguir datos realistas es muy importante que el perfil de la gota a analizar posea una geometría totalmente simétrica. *ADSA-P* solo necesita conocer, a parte de algunos puntos del perfil de la gota, la densidad del líquido y la aceleración local de gravedad.

ADSA-CD analiza la gota desde arriba, evaluando el diámetro de contacto y ajustando este diámetro a la ecuación de capilaridad de Laplace; requiere conocer, a parte de las coordenadas de los puntos de la línea de tres fases, la tensión superficial, la aceleración local de gravedad y el volumen de la gota de estudio. La importancia de la aplicación de este método se basa en que no es necesaria una geometría simétrica de la gota para obtener resultados realistas. La dentina es una superficie heterogénea que provocará asimetría en la gota. En este estudio *ADSA-P* se ha aplicado en la determinación de la tensión superficial de la resina adhesiva. Y *ADSA-CD*, en la medida de la humectabilidad (ángulo de contacto) del agua y se usó una resina adhesiva basada en acetona en la dentina.

Para la dispensación de la gota y su visualización también se usó una micropipeta *Eppendorf* (Eppendorf Scientific Inc., Westbury, NY) y un sistema de microvideo (Leica Wild M 32 Microscopy, Wild, Heerbrugg, Switzerland).

III.2.1.1. Preparación de las muestras.

En este estudio se usaron veinte terceros molares humanos sanos extraídos; se almacenaron en una solución de cloramina al 0,5% hasta 1 mes después de su extracción. Los dientes extraídos se limpiaron y se montaron en bloques de resina acrílica autopolimerizable, dejando los dos tercios oclusales de la corona expuestos. Los

especímenes fueron seccionados por debajo de la unión amelodentinaria (fig. 1) y pulidos con papel abrasivo de SiC de 600-grit irrigados con agua, para obtener superficies uniformes de dentina. Los especímenes se dividieron de forma aleatoria en tres grupos iguales (n=10).

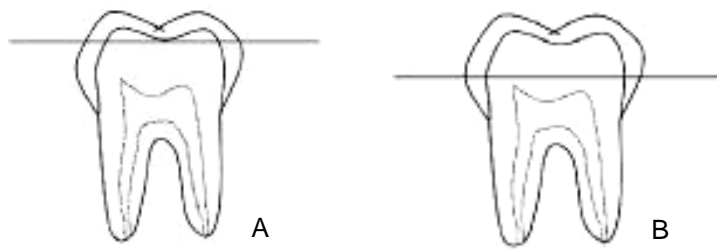


Fig. 1. Preparación para dentina superficial(A) y dentina profunda (B).

Grupo 1: después del pulido, 10 gotas consecutivas de 0,3 μ l de agua desionizada fueron colocadas en la superficie dentinaria pulida con una micropipeta *Eppendorf* (Eppendorf Scientific Inc., Westbury, NY) y se midió el ángulo de contacto observado.

Grupo 2: tras el pulido y la evaluación anterior de ángulo de contacto, la superficie fue grabada con ácido fosfórico al 35% durante 15 segundos y lavada con agua 10 segundos. Diez gotas consecutivas de 0,3 μ l de agua desionizada fueron colocadas en la superficie dentinaria grabada con una micropipeta *Eppendorf* para medir el ángulo de contacto. Después de medir dicho ángulo, se colocó una gota de *Syntact Sprint* y se volvió a medir el ángulo de contacto formado por este adhesivo.

Grupo 3: Diez gotas consecutivas de 0,3 μ l de agua desionizada fueron colocadas en la superficie dentinaria (cubierta de barrillo dentinario) con una micropipeta *Eppendorf* y se midió el ángulo de contacto. Después, la superficie fue grabada y lavada. Se colocaron diez gotas más de agua en la superficie dentinaria grabada. Después de medir el ángulo de contacto, la superficie dentinaria fue desproteinizada con una solución de NaOCl al 5% (Panreac Química S.A., Barcelona, España) durante 2 minutos con agitación constante y fue lavada con agua destilada durante 10 segundos. Otras diez gotas de agua fueron colocadas en esta superficie dentinaria grabada y desproteinizada para medir el ángulo de contacto. Una gota de *Syntact Sprint* fue depositada en la dentina desproteinizada y se midió el ángulo de contacto formado.

Tras hacer los tests en la dentina superficial, los molares fueron cortados 800 μ m \pm 100 μ m por debajo del nivel original para obtener dentina profunda (la distancia entre cada corte fue de aproximadamente 1,1mm \pm 0,1mm). Esta dentina profunda expuesta fue pulida con el mismo método usado en la dentina superficial. Como se ha descrito previamente, el ángulo de contacto observado se midió en la dentina profunda para los 3 grupos, con agua (10 gotas para cada muestra) y con el sistema adhesivo *Syntact Sprint*.

El estado de hidratación de la dentina fue cuidadosamente controlado. El exceso de agua fue eliminado justo antes de hacer las mediciones del ángulo de contacto, para evitar la deshidratación de la dentina, dejando una superficie húmeda y ligeramente brillante. Todas las mediciones de los ángulos de contacto se hicieron en una célula termo-estática a 25 °C y cerca de la saturación en humedad.

III.2.1.2. Determinación de la tensión superficial.

La tensión superficial del agua es de 0,0728 N/m.

Por lo tanto, se procedió a determinar la tensión superficial del sistema adhesivo. Se utilizó técnica *ADSA-P* (fig. 2), que, como ya se ha referido, determina la tensión superficial de un líquido-fluido a partir de la geometría de un menisco axisimétrico formado por una gota pendiente o una burbuja cautiva.

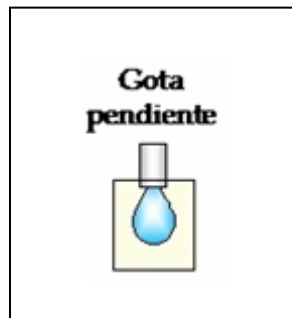


Fig.2. Representación del dispositivo utilizado para medidas de tensión superficial y ángulo de contacto con *ADSA-P*

III.2.1.3. Medición de ángulo de contacto.

Se usó la técnica *ADSA-CD* (*Axisymmetric Drop Shape Analysis - Contact Diameter*) (Li y cols., 1992; Cheng y cols., 1990; Skinner, Rotenberg y Neumann, 1989) para hacer las medidas del ángulo de contacto. El programa *ADSA-CD* requiere el diámetro de contacto de la gota sésil (fig.3), la densidad y la tensión interfacial del fluido para obtener el ángulo de contacto. El diámetro de contacto de la gota es determinado en una imagen de la visión superior de la gota sésil. Este programa permite medir el ángulo de contacto de gotas sésiles incluso de aquellas que no tengan un perfil simétrico. El volumen de cada gota fue de 0,3 µl calibrado con una micropipeta *Eppendorf* (Eppendorf Scientific Inc., Westbury, NY). Las imágenes fueron capturadas inmediatamente después de la deposición con un sistema de microvideo (Leica Wild M 32 Microscopy, Wild, Heerbrugg, Switzerland) usando una magnificación de 10x. La señal de video fue transmitida para el “*Data Translation Frame Grabber Board*” (Data Translation, Malboro, MA) con 256 niveles de gris y una resolución de 800x600 píxeles. Se usó un ordenador Intel® Core™ 2 (Intel, London, UK) para adquirir la imagen del “*Frame Grabber*” y para hacer los cálculos. El *software* del ordenador (Cheng y cols., 1990; Li y cols., 1992) proporcionó los valores del ángulo de contacto. El montaje de los aparatos se hizo en una mesa neumática anti-vibratoria.

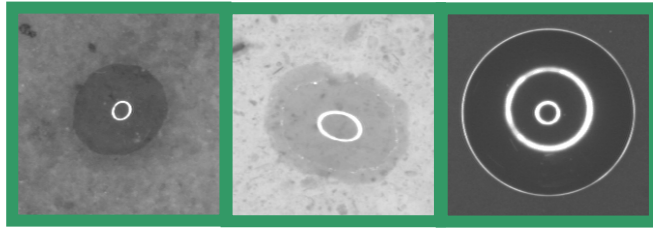


Fig.3: Fotografías de una gota sésil 3.

III.2.2. Perfilometría de superficie (rugosidad).

La perfilometría tiene como objetivo cuantificar la rugosidad de las superficies mediante perfiles lineales. Para ello se utilizó el perfilómetro o rugosímetro (Mitutoyo SurfTest 201, Tokyo) que consiste en un brazo móvil con una punta palpadora que recorre linealmente la superficie (fig. 4). La punta es un diamante con un diámetro de 5 μm , tiene una sensibilidad de 0,05 μm .

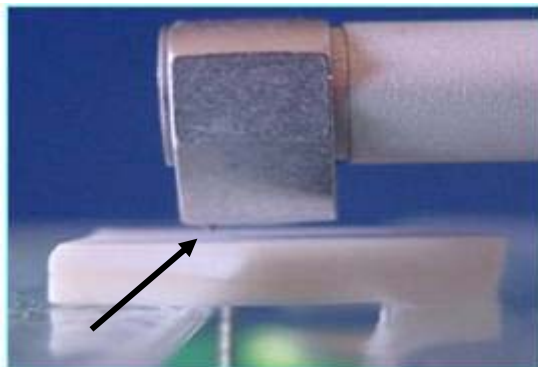


Fig.4. Punta palpadora de diamante

En este estudio se usaron doce terceros molares humanos sanos extraídos; se almacenaron en una solución de cloramina al 0,5% hasta 1 mes después de su extracción. Los dientes extraídos se limpiaron y se montaron en bloques de resina acrílica autopolimizable, dejando los dos tercios oclusales de la corona expuestos. Los especímenes se dividieron de forma aleatoria en dos grupos iguales; en el grupo A ($n = 6$) los dientes se seccionaron por debajo de la unión amelodentinaria (fig. 1 A) y se

pulieron con papel abrasivo de SiC de 600-grit irrigados con agua, durante 60 segundos para obtener superficies uniformes de dentina superficial. Las superficies se observaron en un estereomicroscopio (Olympus Optical Co., GmbH, Hamburg, Germany) para asegurar que no quedara ningún esmalte residual. En el grupo B ($n = 6$) los dientes se cortaron $1,1 \pm 0,1$ mm por debajo de los niveles originales (fig. 1 B), y se aplanaron para exponer dentina profunda.

Se midió la rugosidad de la superficie de los mismos, tras recibir cada uno de los tratamientos de superficie descritos.

Para cada muestra se hicieron 12 recorridos de 8 mm en cada superficie con tres orientaciones diferentes, que se consiguieron girando el espécimen 45° cada cuatro perfilometrías y se calculó el R_a (desviación media aritmética del perfil de rugosidad) en μm , con un valor de paso de 0,8 mm (fig. 5).

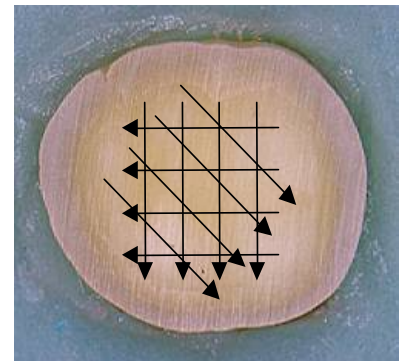


Fig. 5. Dirección de los recorridos durante las medidas de rugosidad

Las medidas se realizaron también en una mesa antivibratoria para evitar las posibles interferencias ocasionadas por las vibraciones del edificio.

El perfilómetro se calibró previamente a cada medida con un patrón de rugosidad R_a conocido de $3 \mu\text{m}$ (dado por el fabricante), ajustando el aparato hasta igualar esa medida.

El análisis de la rugosidad realizado por el aparato contempla la superficie desde un punto de vista transversal, donde se muestra el perfil de rugosidad que representa la intersección de la superficie con un plano normal a ésta y en la que se puede medir la altura y la profundidad de los picos y valles que forman las irregularidades.

III.3. Caracterización de la interfase.

III.3.1. Evaluación de la resistencia adhesiva.

Para determinar este parámetro utilizamos el *Single-Plane Shear Test Assembly* (SPSTA) (Test de Resistencia al Cizallamiento en un Plano Único). Este sistema minimiza la creación de tensiones complejas, aplicando la tensión sobre la zona de adhesión en un solo plano (Watanabe y cols., 2000). Este método consiste en un sistema simple de dos placas o mordazas de un material polimérico (homopolímero de acetato, Delrin™, California USA); una para fijar el sustrato y la otra para abrazar el material restaurador. Las dos mordazas entran en contacto únicamente por el área de adhesión durante la carga. Se fijan mediante cadenas flexibles que proporcionan un perfecto alineamiento entre la interfase de unión y la dirección de la carga, acopladas a una máquina universal de ensayos (Watanabe y cols., 2000).

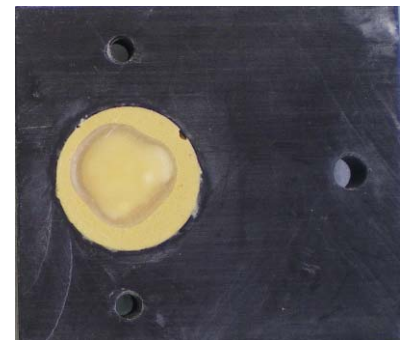


Fig. 6. Mordaza 1 con un espécimen colocado.

La mordaza 1 es la que incorpora el espécimen o sustrato de unión (fig. 6). Esta mordaza tiene en su centro una perforación con una porción cilíndrica en una cara y otra porción troncocónica en la otra cara.

La porción cilíndrica tiene una altura de 2 mm perpendicular al eje de tracción. Está situada en la cara de la mordaza donde se realiza la adhesión. Tiene como finalidad evitar movimientos del espécimen durante la carga. La mordaza 1 tiene dos orificios roscados a ambos lados del orificio central en el eje menor de la mordaza para atornillar a la otra mordaza. También tiene otro orificio en un extremo del eje mayor de la mordaza para unirla a los elementos de anclaje universales. Para el montaje del espécimen en la mordaza 1 es necesaria una cinta adhesiva de poliéster de alta resistencia a los solventes. Esta cinta adhesiva lleva una perforación de un diámetro de 3,6 mm. El espécimen se adhiere a esta cinta adhesiva, quedando expuesta la zona de adhesión.

El espécimen es ubicado en la perforación mayor de la mordaza 1, con el área a adherir expuesta. La mordaza 1 se invierte, con la zona de adhesión hacia abajo y la parte ancha de la perforación central hacia arriba (fig. 7).

Para asegurar el espécimen rígidamente a la mordaza, la perforación mayor se rellena de yeso piedra tipo I (fig. 8) y se espera su fraguado durante 60 minutos.



Fig. 7. Mordaza 1 invertida.

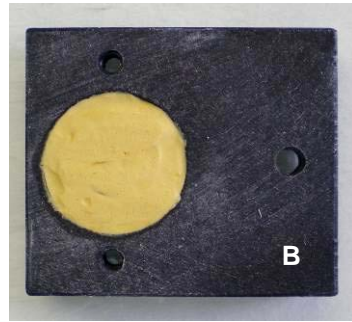


Fig. 8. Mordaza 1: El espécimen incluido en ella con yeso

La mordaza 2 es de dimensiones similares a la mordaza 1 pero el orificio mayor es de menor tamaño (6,35 mm) (fig. 9 A).

En esta perforación (fig. 9 A) se coloca el material de restauración. También tiene una porción cilíndrica de 2 mm de altura paralela al eje de tracción que tiene una triple misión. En primer lugar, no inhibirá cualquier carga mecánica que pueda ocurrir mediante la polimerización del material. En segundo lugar, su altura indica el tamaño de la capa de material de restauración. Y en tercer lugar, sujetará el material en su totalidad evitando contactos lineales o puntuales. Al polimerizar, el material de restauración se convierte en un componente rígido de la mordaza.

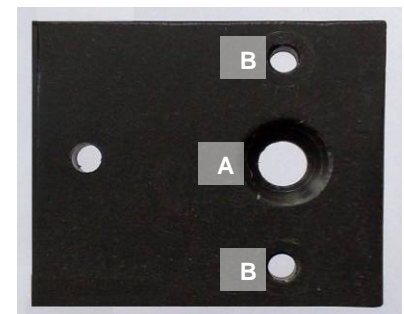


Fig. 9. Mordaza 2.
A: orificio para el material restaurador.
B: orificio roscado.

Al atornillar las mordazas entre sí, la perforación queda alineada directamente sobre la cinta adhesiva con su perforación y la superficie de adhesión expuesta (fig. 10). Estos dos tornillos (fig. 10 A) son eliminados justo antes de la aplicación de la carga en la máquina de tracción.

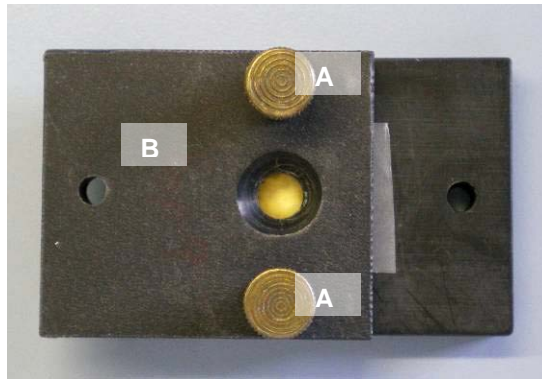


Fig. 10. Superficie dentinaria alineada con el agujero de 6,35mm de la otra mordaza de Watanabe.

La mordaza 2 también tiene un orificio más en un extremo del eje mayor para unirla a los elementos de ensamblaje universales de la máquina de ensayos (fig. 10 B).

III.3.1.1. Obtención de las superficies de estudio.

Las superficies de dentina superficial y profunda se obtubieron de la manera descrita en el apartado III.2. Los especímenes se montaron en las mordazas de Watanabe de la forma ya mencionada (Watanabe y cols., 1988; Watanabe y cols., 1996) con las raíces y las cámaras pulpares de todos los dientes intactas. Todos los especímenes permanecieron hidratados durante todos los procedimientos, manteniendo agua en exceso en las superficies dentinarias preparadas.

III.3.1.2. Aplicación del sistema adhesivo.

Las superficies de 10 especímenes se grabaron con ácido ortofosfórico (H_3PO_4) al 36% (DeTrey Conditioner 36, Dentsply/DeTrey, Konstanz, Germany) durante 15 segundos y se lavaron 10 segundos con agua. Las superficies se secaron suavemente

con aire. Se aplicó la técnica de adhesión húmeda, usando papel secante húmedo para eliminar el exceso de agua de la superficie de la dentina. Clínicamente, una dentina suficientemente húmeda es evidenciada por una superficie uniformemente brillante en la cual no hay agua acumulada (Goes y cols., 1997). Posteriormente, el sistema adhesivo *Syntact Sprint* se aplicó de forma abundante en cada uno de los especímenes de dentina superficial ($n = 5$) y en cada uno de los de dentina profunda ($n = 5$), dejándolo en reposo durante 20 segundos; se secó suavemente con aire durante 5 segundos para evaporar la acetona; y se polimerizó 20 segundos con una lámpara *Optilux 500* (Demetron Research Corporation, Danbury, CT, USA). Posteriormente, se aplicó una segunda capa de adhesivo que fue de inmediato adelgazada con aire.

A continuación, se unieron las mordazas con los tornillos de fijación y se colocó la resina compuesta *Tetric Ceram* (Ivoclar-Vivadent, Schaan, Liechtenstein) en incrementos de 1-1,5mm y se polimerizó con la lámpara *Optilux 500* (fig. 11) durante 40 segundos. La potencia de la lámpara se controló con un radiómetro (Demetron Research Corporation, Danbury, CT, USA) para asegurar un valor constante de 500 mW/cm². El grosor total de material restaurador fue aproximadamente 3 mm.

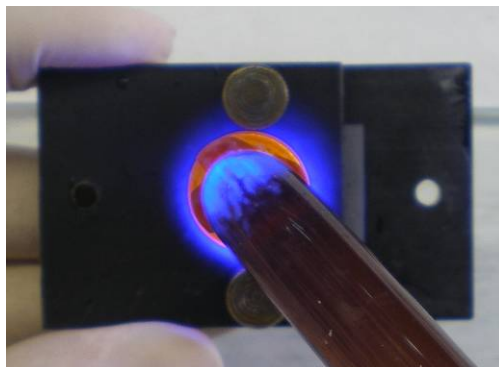


Fig. 11. Polimerización con la lámpara *Optilux 500*

En los otros 10 especímenes (dentina superficial: n = 5; dentina profunda: n = 5), después de la aplicación del ácido y su lavado, se trataron con una solución acuosa de NaOCl al 5% (Panreac Química S.A., Barcelona, España) durante 2 minutos con agitación constante y se lavaron durante 2 minutos con agua destilada. El adhesivo fue aplicado entonces, como ya se ha descrito.

Posteriormente se procedió al ajuste de las mordazas y colocación de la resina compuesta *Tetric Ceram* como se ha descrito anteriormente.

Tras el montaje, las mordazas se almacenaron en agua destilada a 37 °C durante 24h.

III.3.1.3. Test de cizallamiento.

Cumplido el periodo de almacenamiento, los especímenes se termociclaron ([fig.12](#)) (500 ciclos) utilizando dos baños de agua a 5°C y 55 °C respectivamente. El tiempo de inmersión en cada baño fue de 30 segundos, (Toledano y cols., 1999b).



fig. 12. Termocicladora

Después del termociclado, se hizo el test de *Shear Bond Strength (SBS)* usando la Máquina Universal de Ensayos Instron (modelo 4411; Instron Corporation, Canton, MA, USA) (fig. 13) a una velocidad de cruceta de 0.75 mm/min.



Fig. 13. Máquina Universal de Ensayos Instron (modelo 4411)

Una vez concluido el ensayo de cizallamiento las porciones fracturadas se retiraron cuidadosamente de las mordazas de Watanabe midiéndose el área de la sección de fractura de cada espécimen con un micrómetro de precisión de $\pm 0,01$ mm (Mitutoyo, Tokyo). El valor de la carga máxima en el momento de la fractura obtenido en Newtons fue dividido por el área. Los valores finales de resistencia adhesiva fueron expresados en megapascales (MPa).

III.3.2. Análisis de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).

Se recurrió a esta técnica microscópica para el análisis de la infiltración del adhesivo en las diferentes profundidades de dentina tratada o no con hipoclorito sódico.

Se utilizaron 2 molares para cada grupo de estudio. La preparación de las muestras consistió en la obtención de superficies planas de dentina superficial y profunda tal y como anteriormente se ha descrito.

Los especímenes, una vez procesados, se cortaron con un microtomo de tejidos duros (Accutom Hard Tissue Microtome; Struers, Denmark) en cortes paralelos a su eje mayor. Dichos cortes se cementaron en un portamuestras de aluminio para microscopio electrónico de barrido con un pegamento de carbón. A continuación se cubrieron con oro utilizando una unidad de cobertura Polaron E-5000 (Polaron Equipment Ltd. Watford, England). Los especímenes preparados fueron observados en un microscopio electrónico de barrido (MEB) (1430 VP, LEO Electrón Microscopy Ltd., Cambridge, UK) a una voltaje de aceleración de 20kV, para examinar la morfología de las interfases.

III.4. Evaluación de sellado marginal

En la realización de este estudio se emplearon 12 terceros molares humanos sanos extraídos.

III.4.1. Preparación de las muestras

Una vez obtenidos se limpiaron para eliminar los restos de tejido orgánico y sarro que pudieran tener y se almacenaron en la solución de timol.

A cada diente se le realizó dos cavidades de clase V, una en la cara vestibular y otra en la cara lingual, con la turbina e irrigación y una fresa de carburo de tungsteno #329 (Komet Gebr. Brasseler GmbH, Lemgo, Germany).

Las preparaciones se centraron en la unión amelocementaria de forma que el margen gingival quedaba situado en cemento y el margen oclusal en esmalte; en este último, se realizó un bisel de 45° usando una fresa de diamante (Komet Gebr. Brasseler GmbH, Lemgo, Germany), desgastando aproximadamente la mitad del espesor del esmalte (0.5 mm de profundidad) (Toledano M, *et al* 2000).

Después de una inspección visual para comprobar los márgenes de la cavidad, los dientes se distribuyeron aleatoriamente en 2 grupos experimentales (n=5), correspondientes a cada uno de los tratamientos de superficie aplicados.

III.4.2. Protocolo de aplicación del adhesivo

El sistema adhesivo Syntact Sprint se aplicó igual que en el apartado III.3.2.1.2. en esmalte y dentina siguiendo los dos protocolos diferentes (cada protocolo se aplicó en 5 molares):

Para evaluar la microfiltración del sistema adhesivo se aplicó según los siguientes protocolos:

- Acondicionando las superficie con ácido ortofosfórico al 37%.
- Aplicando una solución al 5 % de NaOCl en agua destilada durante 2 minutos con agitación constante.

Estas cavidades fueron restauradas con el composite Tetric Ceram, colocándolo en dos incrementos y fotocurándolo cada uno durante 40 segundos con una lámpara de luz halógena con una intensidad: 600 mW/cm^2 , (Demetron Research Corp, Danbury, CT, USA),(Figura 1), la intensidad de la luz fue comprobada periódicamente con un radiómetro (Demetron Research Corp, Danbury, CT, USA).

El acabado y el pulido de las restauraciones se realizaron con discos Sof-lex (3M Dental Products Division, St Paul, MN, USA). Los dientes restaurados de cada grupo almacenaron en agua destilada a 37° C durante 24 horas y se termociclaron como se describe en el apartado anterior. Después se sellaron los ápices de los molares con una cera pegajosa (Kerr USA, Romulus, MI, USA) y toda la superficie de los molares fue barnizada con esmalte de uñas excepto a 1 mm del margen de las restauraciones.

Posteriormente fueron incluidos en una solución de fuccina básica al 0.5% (figuras 14 y 15) durante 24 horas a 37° C y lavados con agua y secados con aire hasta poder visualizar el margen de las restauraciones. Para facilitar el corte de los dientes se incluyeron en un bloque de resina autopolimerizable (Technovit 7200 VLC, Kulzer, Norderstedt, Germany).



Figura 14- Molar barnizado con ápices sellados.

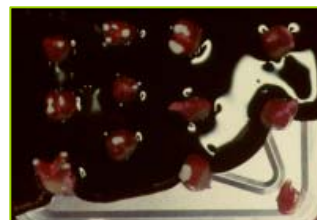


Figura 15- Molares barnizados con ápices sellados siendo incluidos en fuccina.

Cada diente se cortó longitudinalmente en secciones de 1 mm de espesor con un disco de diamante a baja velocidad y con irrigación (Isomet 4000; Buehler Ltd. Lake Bluff, IL, USA) para evaluar el sellado marginal.

Las secciones se separaron, y las superficies correspondientes a la porción mesial, distal y central de la interfase de las restauraciones se examinaron a nivel de los márgenes oclusal y gingival con un esteromicroscopio (SZ-4045TR Olympus Co., Tokyo, Japan) a x 40 aumentos.

III.4.3. Evaluación de la microfiltración

La penetración de la tinción en ambos márgenes se registró de acuerdo con el siguiente baremo:

Grado 0: no hay penetración de colorante (Figura 16).

Grado 1: la penetración de colorante no pasa de la mitad de las paredes gingival u oclusal de la restauración (Figura 17).

Grado 2: la penetración de colorante no pasa sobre el ángulo que formen las paredes gingival y oclusal con la pared axial (Figura 18).

Grado 3: la penetración de colorante afecta a la pared axial de colorante (Figura 19).

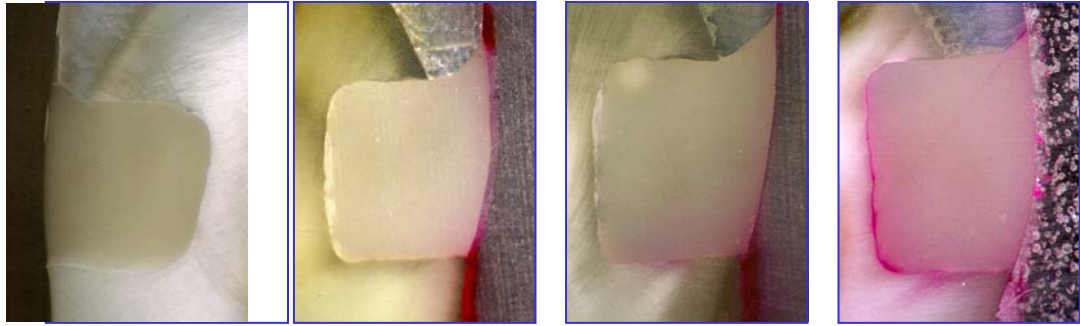


Figura 17

Figura 17

Figura 18

Figura 19

III.5. Análisis estadístico.

III.5.1. Estadística descriptiva.

Todas las variables cuantitativas sometidas a estudio fueron descritas adoptando como medida de tendencia central la media aritmética y como medida de dispersión la desviación estándar.

III.5.2. Estadística analítica.

Las variables dependientes cuantitativas estudiadas fueron el ángulo de contacto, la rugosidad y la SBS.

Se realizaron los tests de ANOVA *two way* para establecer la relación de las variables dependientes: ángulo de contacto (humectabilidad), rugosidad y resistencia al cizallamiento, con las variables independientes: profundidad de la dentina (superficial, profunda) y tratamiento de superficie (pulido, grabado, desproteinizado); incluyéndose el análisis de las posibles interacciones

Las comparaciones múltiples posteriores se llevaron a cabo mediante el test de *Student-Newman-Keuls* o el test de la *t* de Student. El nivel de significación estadística aceptado fue de un 95% de confianza.

Los datos de microfiltración obtenidos en los márgenes gingival y oclusal de las cavidades en cada grupo experimental se analizaron con el test Kruskal-Wallis ($p < 0.05$). Si existían diferencias significativas en algún margen se aplicó el test de Mann-Whitney U ($p < 0.01$). La comparación entre grupos se completó usando el test de Wilcoxon para muestras apareadas ($p < 0.05$).

El análisis de los datos fue realizado con el paquete estadístico *SPSS/PC+* v-4.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU).

IV. RESULTADOS

La Tabla 2 muestra las medias y desviaciones estándar de los ángulos ($^{\circ}$) de contacto obtenidos en dentina superficial y profunda. Two-way ANOVA indicó que el tratamiento de superficie no influyó significativamente ($p=0.14$) pero la profundidad de dentina y las interacciones sí son significativas ($p<0.001$). El ángulo de contacto observado cuando era medido con agua disminuyó en dentina grabada comparado con la dentina pulida (cubierta con barrillo dentinario), a pesar de la profundidad de dentina. La media del ángulo de contacto obtenido en la dentina grabada vs la grabada y tratada con hipoclorito sódico fue estadísticamente similar en dentina superficial, pero diferente en dentina profunda.

Los ángulos de contacto formados por el adhesivo fueron iguales en las distintas profundidades con los diferentes tratamientos de superficie.

La Tabla 3 muestra las medias y desviaciones estándar de la rugosidad de las diferentes superficies de dentina. Los resultados muestran que el tratamiento de superficie influye significativamente ($p<0.0001$) en la rugosidad de la superficie dentinaria; la profundidad de la dentina no afecta a esta variable ($p=0.4$).

La tabla 4 expone las medias y desviaciones estándar de las fuerzas de unión con los distintos tratamientos en las distintas profundidades de dentina. Los resultados mostraron que la profundidad de dentina y el grabado ácido influyeron en la fuerza de unión ($p<0,05$). Mientras que el grabado y posterior tratamiento con NaOCl no influyeron en dicha variable ($p>0,05$) cuando se trataba de la misma profundidad.

La mitad de los especímenes adheridos mostraron fallos cohesivos en dentina (Tabla 5), lo que sugiere que la fuerza de unión es mayor que la fuerza cohesiva de dicho tejido y que la publicada anteriormente.

Ninguno de los procedimientos evaluados en este estudio eliminó completamente la microfiltración. Los valores de filtración se presentan en la Tabla 6.

En la pared oclusal no hubo diferencias significativas entre los especímenes que habían sido grabados y aquellos que habían sido grabados y tratados con NaOCl ($p>0.05$). En la pared gingival, las diferencias tampoco fueron significativas ($p>0.05$).

Cuando se comparó la filtración de gingival con oclusal en cada grupo, la pared oclusal filtró significativamente menos que la pared gingival ($p<0.001$).

Los hallazgos de microscopía electrónica de barrido en esmalte se muestran en las figuras 14 y 15. No se encuentran *gaps* entre el adhesivo y el esmalte, a pesar de los protocolos usados para acondicionar el tejido antes de aplicar el sistema adhesivo. Los *tags* de resina eran visibles después de ambos tratamientos de superficie, a lo largo de toda la interfase. En las figuras 16 y 17 se observa la interfase en dentina para los especímenes grabados, la capa híbrida era irregular y el adhesivo contactaba directamente con los cuellos de los *tags* de resina. Algunas áreas mostraban una capa híbrida fina. Cuando se aplicó el NaOCl como tratamiento de la superficie dentinaria se detectaron largos *tags* de resina (fig 18 y 19) encontrándose ramas laterales sin rellenar de resina principalmente alrededor de la base de los *tags* de resina. En todos los especímenes se observaron algunas áreas con *gaps* interfaciales. Dichos *gaps* eran más

frecuentemente encontrados en las regiones axiales y representaban aproximadamente la mitad de toda la longitud de la superficie de las cavidades. Todos los *gaps* que se observaron en los especímenes de dentina estaban también en las replicas de resina epoxi.

Tabla 2. Medias y Desviaciones Estándar del ángulo de contacto (°) del agua y del Syntact Sprint en la dentina superficial y profunda.

Tratamientos de dentina	Agua		Syntact Sprint	
	Dentina Superficial	Dentina profunda	Dentina superficial	Dentina profunda
pulido	32 (19) a	31 (9) a	--	--
H₃PO₄	8 (5) b	8 (5) b	7 (3) a	6 (2) a
H₃PO₄+NaOCl	9 (4) b	5 (2) c	8 (5) a	19 (13) a

Los valores con diferentes letras indican que existen diferencias significativas entre los grupos, con un grado de confianza del 95%.

Tabla 3. Valores medios de rugosidad (µm) obtenidos en la dentina profunda y superficial con los distintos tratamientos de superficie.

Dentina	Superficial	Profunda
Pulida	0.60 (0.10) a	0.55 (0.21) b
Grabada	0.69 (0.14) c	0.72 (0.18) c
Tratada con NaOCl	0.58 (0.12) a	0.75 (0.16) c

Los valores con diferentes letras indican que existen diferencias significativas entre los grupos, con un grado de confianza del 95%.

Tabla 4. Medias (Desviaciones estándar) de los valores de fuerza de adhesión (Mpa), obtenidos en dentina superficial y profunda, después del grabado ácido y la aplicación de NaOCl.

Dentina	Superficial	Profunda
Grabado ácido	5.08 (3.17) a	6.43 (4.62) c
Grabado ácido/NaOCl	5.45 (3.15) ab	5.62 (1.24) bc

En columnas no existen diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

Tabla 5. Porcentaje de la distribución del modo de fallo.

Tipo Fallo	Cohesivos	Mixto	Adhesivo
D.S. grabada	55%	45%	0%
D.P. grabada	54%	46%	0%
D.S. grabada y NaOCl	54%	40%	6%
D.P. grabada y NaOCl	56%	30%	8%

Tabla 6. Valores de microfiltración obtenidos en cada grupo experimental.

	Margen oclusal				Margin gingival				Total
	0	1	2	3	0	1	2	3	
<i>Acido</i>	8	3	1	0	0	0	0	12	12
Acido/NaOCl	6	3	1	2	0	0	1	11	12

No existen diferencias entre los grupos experimentales ($P = 0.63$).

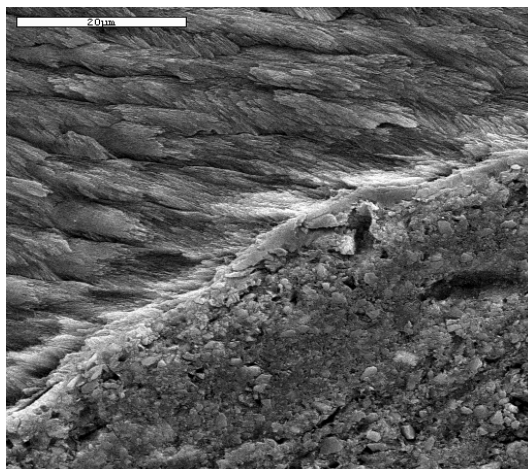


Fig.14. Fotografía de MEB de la interfase esmalte resina con el sistema adhesivo Syntac Sprint aplicado según fabricante.

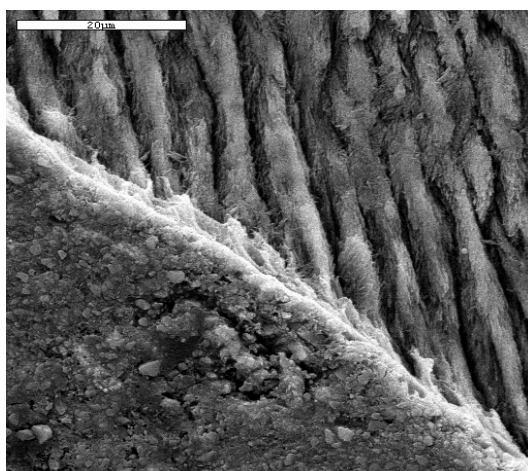


Fig.15. Fotografía de MEB de la interfase esmalte tratado con NaOCl tras el grabado y la resina compuesta usando el sistema adhesivo Syntac Sprint.

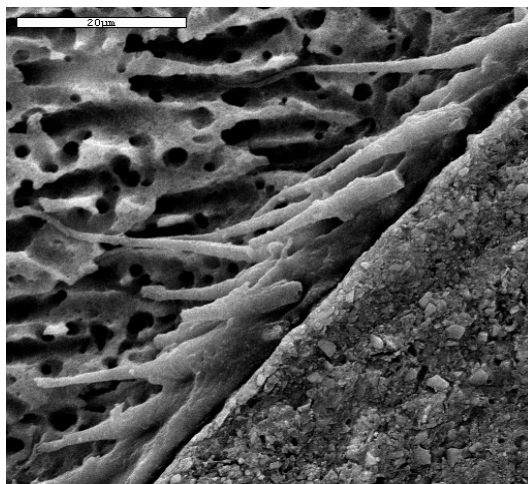


Fig.16. Fotografía de MEB de la interfase dentina-resina cuando el sistema adhesivo Syntac Sprint se aplicó según las instrucciones del fabricante.

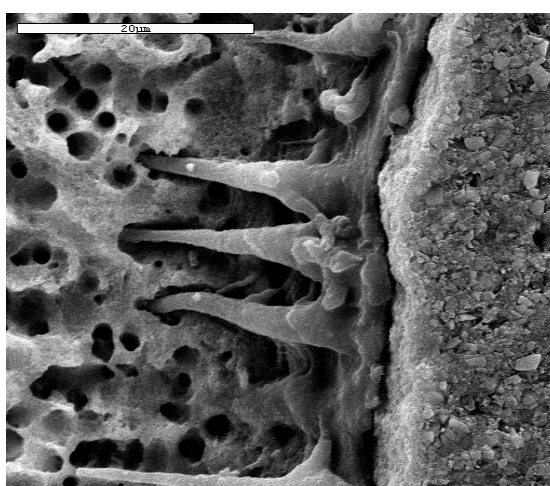


Fig. 17. Fotografía de MEB de los tags de resina y la capa híbrida en la interfase dentina-resina cuando el sistema adhesivo Syntac Sprint se aplicó según las instrucciones del fabricante.

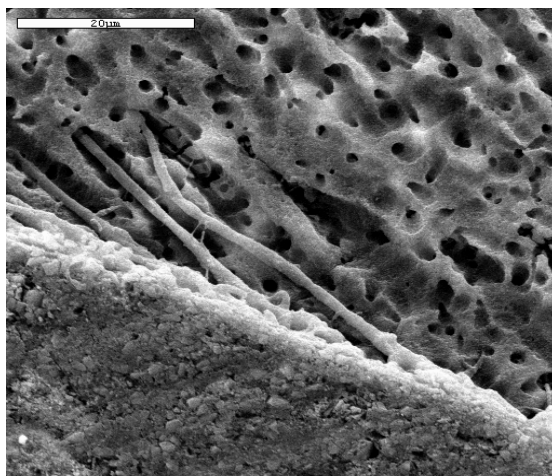


Fig.18. Fotografía de MEB de la interfase dentina-resina cuando el sistema adhesivo Syntac Sprint se aplicó después del tratamiento con NaOCl.

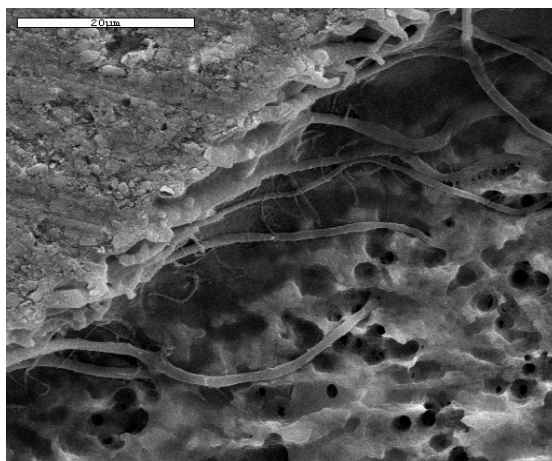


Fig.19. Fotografía de MEB de los tags de resina con sus ramas laterales en la interfase dentina-resina cuando el sistema adhesivo Syntac Sprint se aplicó después del tratamiento con NaOCl.

V. DISCUSIÓN

Los estudios clínicos suelen ser los más considerados de los trabajos de investigación en materiales dentales. Pero hay que tener en consideración que los productos investigados clínicamente se pueden convertir en materiales obsoletos por el tiempo que necesitan los trabajos clínicos en su realización y su publicación. Por eso, los estudios preclínicos con test de laboratorio son una importante herramienta para la evaluación de estos materiales (Frankenberger R, Tay FR., 2005).

Siguiendo las recomendaciones de la *International Standards Organization* (ISO/TS 11405: 2003(E), en éste estudio solo se usaron molares humanos permanentes, sanos y no restaurados. El tiempo transcurrido tras la extracción de los especímenes es importante debido al deterioro que puede sufrir el contenido protéico de la dentina. Aunque lo ideal es utilizarlos dentro del mes posterior a la extracción, el experimento se puede demorar hasta seis meses sin que se produzcan cambios significativos que puedan alterar los resultados (ISO/TS 11405: 2003(E).El medio de conservación es también importante por las alteraciones que puede inducir en los tejidos dentales. En este estudio se ha seguido el indicado por la norma ISO/TS 11405: 2003(E) que consistió en el almacenamiento en una solución de cloramina al 0,5% hasta, como máximo, 1 mes después de su extracción.

Los experimentos se pueden realizar, dentro de un mismo espécimen, en distintas zonas de su anatomía. Es muy importante seguir un proceso de estandarización en la selección y preparación de la zona de estudio para hacer reproducible el experimento y poder equiparar los resultados con los obtenidos por otros

investigadores. La dentina utilizada (en los niveles superficial y profundo de manera estandarizada) es también empleada por muchos otros investigadores, lo que facilita realizar comparaciones con otros estudios.

Otro apartado del método seguido ha sido la aplicación de técnicas que permiten el análisis de fenómenos interfaciales como la tensión superficial y el ángulo de contacto. Para este fin, se ha utilizado la técnica *ADSA* en sus variantes *ADSA-P* y *ADSA-CD*. La aplicación de la técnica *ADSA* tiene como principal ventaja un análisis no invasivo, en el que el líquido de estudio se puede mantener en unas condiciones físicas estables, obteniéndose resultados consistentes.

La técnica *ADSA-P* se llevó a cabo para determinar la tensión superficial de un líquido-fluido a partir de la geometría de un menisco axisimétrico formado por una gota pendiente o una gota sésil (Cheng y Neumann, 1992). Pero esta técnica presenta algunas limitaciones que han motivado la utilización en este estudio de la técnica *ADSA-CD* en la determinación de un ángulo de contacto líquido-sólido (Wege y cols., 2003; Li y cols., 1992; Cheng y cols., 1990; Skinner y cols., 1989). Las limitaciones que presenta *ADSA-P* son básicamente dos. En primer lugar, la asimetría que presenta la gota al ser depositada sobre el sustrato dentinario. La dentina es una superficie muy heterogénea y con grandes irregularidades. Esto hace que al depositar una gota se produzca una extensión no homogénea sobre la superficie, es decir, la gota se extiende más por unas zonas que por otras. El resultado es una gota con una geometría totalmente asimétrica. Si se realizara un análisis del perfil de la gota, el resultado se modificaría según la orientación de la gota, ya que el ángulo de contacto varía según la zona de la gota. En segundo lugar, existe un problema técnico en la determinación del ángulo de contacto a

partir del perfil. La técnica *ADSA-P* presenta algunas limitaciones en la medida de los ángulos de contacto menores a 20° o 30° (Cheng y cols., 1990; Skinner y cols., 1989). El sustrato utilizado para realizar las medidas es un medio biológico hidratado que proporciona valores de ángulos de contacto bajos. Por este motivo se utilizó la técnica *ADSA-CD*. La precisión de *ADSA-P* en la localización de las coordenadas de los puntos del perfil de la gota desciende enormemente cuanto menor es el ángulo de contacto a partir de 20°.

Sin embargo, *ADSA-CD* ha presentado una dificultad técnica importante. Mientras que en la determinación del ángulo de contacto de una gota a partir de su perfil (*ADSA-P*) no es necesario conocer el volumen, en el método *ADSA-CD* es fundamental. A este hecho se une la dificultad de obtener volúmenes muy pequeños para evitar que la gota se salga del campo de visión de la cámara y se extienda a zonas del espécimen no deseadas. Como consecuencia, se hace necesaria la utilización de instrumental de alta precisión que proporcione volúmenes muy pequeños. La micropipeta es uno de los aparatos más fiables para conseguir volúmenes pequeños exactos. En este caso, como las resinas contaminan e inutilizan cualquier micropipeta, se recurrió a una pipeta de puntas desechables (micropipeta *Eppendorf*).

En un trabajo que valora la eficacia adhesiva, la eficacia del sellado marginal y la ultraestructura de la interfase de unión, uno de los requisitos básicos para que se establezca una buena adhesión es que la humectabilidad sea elevada (Aguilar-Mendoza y cols., 2008; Wege y cols., 2003; Erickson, 1992), es decir, que el adhesivo aplicado se extienda ampliamente sobre la superficie del sustrato dentario acondicionado (Perdigão y Ritter, 2001). Esta variable aporta una información importante sobre la relación que se

produce entre adhesivo y el adherente, en nuestro estudio la dentina. Esta interacción puede ser evaluada gracias a la determinación del ángulo de contacto formado entre un líquido y la superficie de la dentina (Perdigão y Ritter, 2001).

El ángulo de contacto va a influir en otro aspecto, en la eliminación de burbujas de aire (Combe, 1990; McCabe, 2006; Macchi, 2007). Al poner un líquido sobre una superficie rugosa van a quedar atrapadas una cantidad de burbujas de aire dependientes del ángulo de contacto entre el líquido y la superficie. Así, a mayor ángulo de contacto, mayor cantidad de burbujas. Este aspecto tiene importancia porque esa zona de aire no va a contactar con el adhesivo, disminuyéndose así la fuerza de adhesión. Una humectabilidad elevada (bajo ángulo de contacto) implica un contacto íntimo entre el adhesivo y la dentina, contribuyendo así, para una mejor adhesión (Aguilar-Mendoza y cols., 2008; Rosales y cols., 2001).

La dentina es un tejido compuesto por dos sustratos diferentes: el colágeno, que tiene una baja energía superficial y la hidroxiapatita, que tiene una alta energía superficial (Toledano y cols., 2003a; Toledano y cols., 1999a; Akinmade y Nicholson, 1993). El grabado ácido de un sustrato es un tratamiento importante para mejorar la adhesión pues es un paso que va a cambiar la morfología, la química y las características energéticas de la superficie (Vaidyanathan y col., 2009; Rosales y cols., 2001). Después del grabado ácido la energía de superficie, y consecuentemente el ángulo de contacto, deberían disminuir por la exposición de las fibras colágenas y por la pérdida de contenido mineral, sin embargo hay un aumento de la apertura de los túbulos y de las irregularidades de la superficie lo que contribuye para la disminución del ángulo de contacto (Wege y cols., 2003; Rosales y cols., 2001; Marshall y cols., 1997b;

Van Meerbeek y cols., 1992). Erickson (1992) descubrió que después de la aplicación de EDTA y de una solución de oxalato (1% ácido nítrico, 2% ácido fosfórico y 2,5% oxalato de aluminio) hay una disminución en la tensión de superficie. Panighi y G'Sell (1992) también obtuvieron una relación directa entre el grado de mineralización y la capacidad de humectación del adhesivo. Attal y cols. (1994) no encontraron diferencias en la energía libre de la dentina después del grabado ácido, pero sugirieron que el grabado ácido no promueve la humectación porque la desmineralización origina una superficie hidrofóbica.

Como el primer paso de la interacción entre el adhesivo y el sustrato es la humectación del sustrato, el objetivo de este estudio fue investigar el mecanismo de humectación de una manera exhaustiva a través de la relación de la capacidad de difusión del agua y de un sistema adhesivo basado en acetona (*Syntact Sprint*), en diferentes superficies dentinarias pulidas (pulida y cubierta de barrillo dentinario, grabada, grabada/tratada con NaOCl) y a diferentes niveles de dentina (superficial y profunda).

La humectabilidad es una variable fuertemente dependiente de la rugosidad, de la composición química y del estado de hidratación, y puede ser influida por la densidad numérica de los túbulos. Para que se obtenga una elevada humectabilidad es necesario que la energía de superficie del sustrato sea más alta que la tensión superficial del adhesivo (Rosales y cols., 2001).

La rugosidad fue relacionada con la humectabilidad en la ecuación de Wenzel, quien relató que irregularidades de la superficie sólida influyen en las mediciones del ángulo de contacto, y expresó sus resultados en la siguiente ecuación (Wenzel, 1936):

$$r = \frac{\cos \theta_1}{\cos \theta_2}$$

donde:

r = proporción entre área observada y área aparente o proyectado.

Ángulo de contacto θ_1 = ángulo de contacto medido o aparente.

Ángulo de contacto θ_2 = ángulo de contacto real.

Esta ecuación indica que para ángulos de contacto menores de 90° medidos en superficies lisas, un aumento de la rugosidad disminuiría más ese ángulo; sin embargo, si el ángulo es mayor que 90°, un aumento de la rugosidad, anómalamente aumenta ese ángulo de contacto.

El ángulo de contacto del agua también es dependiente de la hidratación de la dentina. La dentina es un composite biológico naturalmente hidratado, y si se deshidrata después de una desmineralización parcial, la matriz de colágeno expuesta puede colapsarse (Vaidyanathan y col., 2009; Rosales y cols., 1999; Kanca, 1996).

La humectabilidad es la primera condición para una buena unión entre un adhesivo y la superficie (Glantz, 1969) y es esencial para los sustratos dentinarios tener una buena penetrabilidad, tan buena como para aplicar monómeros y que tengan buena

difusión (Nakabayashi y cols., 1991). En este estudio, se encontró un aumento significativo de la humectabilidad (disminución del ángulo de contacto observado) en dentina superficial y profunda después del grabado ácido. Rosales-Leal y cols., 2001, obtuvieron resultados similares en ambas profundidades de dentina grabadas cuando se aplicó el precursor del Syntact Sprint (Syntact Single Component). En dentina pulida, los ángulos de contacto observados eran alrededor de 90° , y después del grabado ácido, incluso asumiendo una disminución en la energía superficial de la dentina por la exposición de las fibras de colágeno, los ángulos de contacto se hicieron más pequeños debido a un incremento de la rugosidad superficial (Toledano y cols., 1999), cambios morfológicos, interacciones químicas entre el líquido y la dentina, y la acción de la capilaridad (Inaba y cols., 1995). La dentina profunda era más humectable comparada con la dentina superficial después del grabado ácido y seguida del tratamiento con NaOCl de la dentina grabada. El tratamiento con NaOCl eliminó parcialmente las fibras de colágeno expuestas, y la anchura de las aperturas tubulares se hizo mayor en la dentina profunda que había sido tratada con NaOCl (Perdigao y cols, 1999), mejorando la permeabilidad a través de los túbulos (Inaba y cols., 1995). La presencia de mayor número de túbulos por unidad de superficie (difusión vertical), más ramas laterales (difusión horizontal) (Pashley y cols., 1995) y el hecho de que la dentina profunda es menos mineralizada que la dentina superficial puede ayudar a la formación de los ángulos de contacto en la dentina profunda. La eficacia de la humectabilidad es mejorada usando un adhesivo con un componente en la resina que contenga grupos multicarboxílicos.

Por otro lado, la humectabilidad no cambia en ambas profundidades de dentina cuando es tratada con NaOCl, y se usó el adhesivo para medir el ángulo de contacto. La dentina

superficial grabada y tratada con NaOCl es más rugosa que la dentina profunda grabada y tratada con NaOCl (Toledano y cols., 1999), pero los ángulos de contacto obtenidos fueron similares. Se puede decir que el factor de la humectabilidad $\cos \theta$ aumenta con la rugosidad de la superficie del sustrato (Wenzel., 1936), pero se pensó que el parámetro dominante en la humectabilidad es la energía libre superficial de la dentina intertubular, la cual depende de la concentración de calcio y fósforo (Panighi y C'Shell, 1992). El efecto de las menores concentraciones de calcio y fósforo de la dentina profunda en el ángulo de contacto podría ser compensado por la alta acción de la capilaridad en la dentina profunda. Por otro lado, la aplicación de primers efectivos que contengan monómeros hidrofílicos altera la humectabilidad en el sentido en que permiten mejor penetración de la resina adhesiva (Van Meerbeek y cols., 1996). Otros autores muestran que Scotchbond Multipurpose (3M) y One-Step (Bisco Inc) (Rosales-Leal y cols., 2001), Single Bond (3MESPE) (Osorio R y cols., 2002) y Prime and Bond 2.1 (Detrey-Dentsply) (Toledano y cols., 1999) presentan menores ángulos de contacto cuando se aplican en dentina profunda que en dentina superficial, reflejando el incremento de la humectabilidad basado en la profundidad de la dentina. La presencia de MMPAA y ácido maleico en la composición de las resinas hace que estos adhesivos altamente ácidos, (pH: 2.1), en comparación con ScotchBond Multipurpose (3M) (pH:3.8), y mayores que Etch and Prime (Degusa) (pH: 0.75) (Toledano y cols., 2001) y podría, de hecho, ejercer alguna clase de efecto autograbadador. Cuando esto ocurre, el calcio y el fosfato que eran solubilizados de los cristales de apatita no se eliminan de la zona de unión, evitando la completa infiltración de la resina. ¿Por otro lado, la gran molécula (MMPAA), presente en la composición del adhesivo, cuyo peso molecular es de aproximadamente 65000 (relativo al del HEMA; PM = 130) puede dificultar la impregnación de ambas profundidades de dentina y tratamientos de dentina.. La

disolución parcial de la matriz de colágeno por el NaOCl podría haber reducido el diámetro de las fibras de colágeno, o creado espacios sustanciales dentro de la matriz que estaban completamente exentos de colágeno (Fig 18 y 19). Esto, en teoría, podría promover mejor la infiltración del copolímero del ácido polialkenoico.

Perdigao y cols., (2000) publicaron que la eliminación incompleta del colágeno era posible con el uso de una solución comercialmente disponible de NaOCl al 10% durante 2 minutos. Esto, más el efecto del grabado ácido, tiende a prevenir el colapso de la red de colágeno (Toledano y cols., 2001; Phrukkanon y cols., 1999); la humectabilidad se reduce en estas condiciones, contrariamente a las expectativas esperadas. El tiempo de dispersión de la resina podría haber sido otro factor que ayudó a la ausencia de diferencias significativas, evitando la influencia real de la profundidad de dentina y del tratamiento de la misma en la humectabilidad. Los fabricantes recomiendan un tiempo de espera de 30 segundos, y las resinas basadas en agua necesitan un tiempo mayor para alcanzar la estabilización de la dispersión de la gota (Rosales-Leal y cols., 2001; Jacobsen y Söderholm., 1995; Yamakazi y cols.; 2008).

Los datos sugieren que la capa de colágeno desmineralizado no contribuye en nada a la cualidad de la fuerza de adhesión con este adhesivo en particular. Esto está de acuerdo con trabajos previos (Kanka y Sandrik, 1998). Algunos estudios han publicado que la remoción de la red de colágeno desmineralizado, altera la superficie de la dentina y cambia las propiedades hidrofílicas del sustrato. Bajo estas condiciones, el mecanismo de adhesión a la dentina sin colágeno se basa principalmente en la infiltración de los monómeros de resina dentro de la dentina parcialmente

desmineralizada y sin colágeno, dando lugar a una retención micromecánica que forma lo que se llama “capa híbrida inversa” (Prati y cols., 1999 el 32 de Yamazaki).

En el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas en la dentina superficial grabada y grabada y tratada con NaOCl. En la dentina profunda después del tratamiento con NaOCl tampoco se observaron diferencias en la fuerza de adhesión. Las investigaciones han mostrado que las fuerzas de adhesión obtenidas después de la aplicación de NaOCl o de colagenasa siguiendo al grabado ácido antes de la aplicación del primer, podrían ser iguales o mayores que las obtenidas de especímenes sin aplicación de NaOCl o colagenasa (Vargas y cols., 1997; Gwinnett, 1994; Prati y cols., 1999; Wakabayashi y cols., 1994). Es posible que el efecto del tratamiento con NaOCl sea un sistema específico, siendo dependiente de la composición de los diferentes sistemas adhesivos (Saboia y cols., 2000; Inai y cols., 1998; Perdiago y cols., 2000; Frankerberger y cols., 2000; Silva y cols., 2006) y de la clase de sustrato a tratar. Monticelli y cols., (2007) postularon que los sistemas adhesivos sin HEMA y basados en acetona promueven el movimiento de agua hacia la dentina cubierta con el adhesivo, produciendo la formación de burbujas de agua, independientemente de la humedad inicial de la superficie (Monticelli y cols., 2007; Reis y cols., 2004). Se ha mostrado la alteración química de la subestructura de las fibras de colágeno y su composición química mediante diferentes sistemas adhesivos (Eliades y cols., 1999), igual que el tratamiento con NaOCl (Di Renzo y cols., 2001; Hawkins y Davies, 1998). Cada una de estas interacciones químicas pueden ser sinérgicas o antagónicas, resultando en un aumento o un compromiso de la unión a la matriz de colágeno desmineralizada. El NaOCl, a parte de ser un agente desproteinizante efectivo, también es un potente oxidante biológico (Daumer y cols., 2000). Aunque el NaOCl es un agente proteolítico

no específico bien conocido capaz de eliminar el material orgánico de la superficie de dentina descalcificada (Perdigao y cols., 1999; Perdigao y cols., 2000), los hallazgos en TEM (Perdigao y cols., 2000) y AFM (Phrukkanon y cols., 2000) han mostrado que la eliminación del colágeno de la dentina descalcificada no es siempre completa. Así, es posible que la ausencia de variaciones en la fuerza de adhesión con Syntact Sprint unido a dentina tratada con NaOCl puede estar producida por la afluencia de agua causada por la acetona desde la dentina subyacente (Monticelli y cols., 2007). Se han descrito más interacciones cuando se aplican soluciones de NaOCl (Inai y cols., 1998; Cardoso y cols., 1998). Otro factor concerniente a la eliminación de la red de colágeno en la dentina es la concentración de NaOCl. Se ha publicado que a mayores concentraciones de NaOCl, mayores fuerzas de adhesión se producen hasta una meseta que corresponde con la concentración del 10% aplicada durante 60 segundos (Perdigao y cols., 2000; Tanaka y Nakai, 1993). Esto necesita más trabajos que lo confirmen.

No se encontraron diferencias en la fuerza de adhesión cuando la dentina superficial grabada y la tratada con NaOCl se compararon con la dentina profunda grabada y tratada con NaOCl, como en trabajos anteriores realizados con otros sistemas adhesivos (Toledano y cols., 2007), sin embargo otros estudios sí encontraron diferencias (Erhardt y cols., 2008). Otros autores afirman que la aplicación de NaOCl después del grabado puede mejorar la resistencia de la unión a la degradación química (Sauro y cols., 2009). De todas formas, la mejora de la adhesión a dentina con los distintos tratamientos de superficie (grabado o remoción del colágeno) depende del sistema adhesivo usado (Monticelli y cols., 2008). La fuerza de unión teórica de los agentes de unión a cualquier profundidad de dentina es la suma del área ocupada por los *tags* de resina, la dentina intertubular que está infiltrada por la resina y el área total de la

superficie de adhesión. Siendo la suma de todos estos componentes, la fuerza de adhesión podría ser mas baja cuanto mas cerca de la pulpa esté la dentina (Chigira y cols., 1989). De todas formas, los sistemas adhesivos recientes han aumentado sustancialmente su habilidad para sellar los túbulos de la dentina profunda (Tay y cols., 1994; Burrow y cols., 1994), mediante el desarrollo circunferencial de las capa híbridas alrededor de los tags de resina desde donde posteriormente infiltran la dentina intertubular (Inaba y cols., 1995; Albaladejo y cols, 2010). Los exámenes de las interfaces revelan la presencia de *tags* de resina dentro de los túbulos dentinarios junto con islotes dispersos de capas de adhesivo entre estos *tags* de resina indicando una buena adhesión también en la dentina intertubular (Fig 16 y 17). Los sistemas adhesivos que contienen solventes orgánicos parecen penetrar apropiadamente dentro de los poros de la superficie de dentina profunda tratada con NaOCl (Toledano y cols., 2000; Proença y cols., 2007). Gwinnett (1994) mostró que la mayor parte de la fuerza de adhesión a dentina se obtenía por la topografía irregular de la superficie y por las interacciones superficiales. La ausencia de cambios significativos (Toledano y cols., 1999) podrían explicar los resultados obtenidos en ángulo de contacto y fuerza de adhesión. Otros autores (Kanka y Sandrik, 1998; Uno y Finger, 1995) no obtuvieron diferencias en la fuerza de adhesión entre la dentina superficial grabada vs grabada y tratada con NaOCl. Algunos estudios no encuentran diferencias en la fuerza de adhesión en dentina grabada y dentina grabada y tratada con hipoclorito (Uceda-Gomez y cols., 2007). Explican la similitud en las fuerzas de adhesión en ambas superficies a la posible existencia de hipoclorito residual que podría causar un efecto negativo por la oxidación de algunos componentes de la matriz de dentina; estos interferirían en la iniciación de la polimerización por el oxígeno liberado de las moléculas del NaOCl (Barboza De Souza y cols, 2005; Yamazaki y cols., 2008). Por otro lado, la presencia

de radicales libres de NaOCl podrían competir con los radicales libres del monómero generados durante la foto-activación del adhesivo, originando una polimerización incompleta por terminación prematura de las cadenas de polímero (Barboza De Souza y cols., 2005)

Generalmente, es difícil comparar los resultados de diferentes estudios, pues los métodos son distintos. Los fabricantes de varios sistemas de un solo bote han publicado fuerzas de adhesión altas en dentina, mientras que los investigadores independientes muestran valores mucho más bajos (Swift y cols., 1997). Los fabricantes de Syntact Sprint publicaron valores de SBS de 24 MPa para este sistema adhesivo. Phrukkanon y cols., (2000) obtuvieron mayores fuerzas de adhesión (15.9 MPa-control, 20.4 MPa- 1 min NaOCl) cuando usaron Single Bond (3M) y 16.3 Mpa-control, 21.2 Mpa 1 min NaOCl cuando usaron One Coat Bond (Coltene) como el presente estudio muestra, pero ellos usaron un procedimiento diferente en dentina bovina, especialmente áreas de superficie más pequeñas, y la ausencia del termociclado. Esta interfase tiene que ser sometida a estrés, ya que es una consecuencia de las variaciones comúnmente encontradas en la metodología empleada. Los estudios determinan que las fuerzas de adhesión de los agentes adhesivos son importantes principalmente por sus valores relativos (Cardoso, Braga y Carrilho, 1998) y las comparaciones numéricas no siempre son posibles (Söderholm, 1991).

Si se consigue la adhesión entre dentina mineral y los sistemas adhesivos, la durabilidad de la capa híbrida debe incluso aumentar (Inai y cols., 1998). En el presente estudio, los tests fueron realizados a las 24 horas después de la preparación de los especímenes. Este intervalo de tiempo es adecuado para evaluar la habilidad adhesiva

de un material, pero falla en la provisión de cualquier otra información con respecto a los cambios de la fuerza de adhesión en el tiempo para ambos procedimientos; por esta razón hacen falta más estudios para clarificar los hechos.

Es clínicamente muy importante mejorar la adhesión entre la dentina y la resina adhesiva, porque tal incremento de la fuerza no solamente permite mejor retención de la restauración sino que previene el filtrado marginal, reduciendo así la posibilidad de desarrollar caries secundaria. En esta investigación, se han encontrado similares valores de filtrado en la dentina grabada y tratada con NaOCl. Los datos sugieren que la capa de colágeno desmineralizada puede no contribuir a la calidad de la adhesión con Syntact Sprint en dentina y esmalte. En el actual trabajo se postula que por la desnaturalización parcial, el colágeno residual no es completamente fibroso después del tratamiento con NaOCl y puede existir parcialmente un estado de gel (Lai y cols., 2001).

El Syntact Sprint contiene acetona que podría reemplazar al agua dentro de los poros entre las fibras de colágeno. En la deshidratación química, el agua difunde desde la dentina húmeda dentro del solvente orgánico, mientras el solvente se difunde dentro de la matriz de dentina desmineralizada, y los monómeros de primer disueltos en el solvente se difunden dentro de los espacios previamente ocupados por el agua (Pashley y Carvalho, 1997). Sin embargo, algunas regiones de la preparación cavitaria pueden sufrir el fenómeno de sobremojado resultando en una variabilidad regional de uniones a dentina (Praty y cols., 1992; Cagidiaco y cols., 1997). Esto puede también ocurrir siempre que haya regiones de excesiva humedad extrínseca en la superficie, como en ángulos o en el suelo gingival. Por otro lado, la técnica húmeda de adhesión, que era usada cuando se empleaba Syntact Sprint es difícil de estandarizar clínicamente y por

eso es sensible a los errores de la manipulación clínica (Tay, Gwinnett y Wei, 1996). La acetona y el alcohol usados como solventes pueden hacer que los sistemas adhesivos sean más sensibles a la técnica que los sistemas con agua (Gallo y cols., 2001). El agua residual del primer es otro factor que podría interferir con la microfiltración impidiendo la polimerización de los monómeros de la resina adhesiva. El agua, que se evapora menos rápidamente que la acetona, compite por el espacio con la red de colágeno y puede producir una disminución de la concentración de HEMA dentro de dicha red (Swift y Bayne, 1997).

Los resultados del presente estudio están de acuerdo con encuentros previos (Gwinnett, 1993; Wakabayashi y otros, 1994; Gwinnett y cols., 1996) en relación a que las zonas de dentina ricas en colágeno no juegan un papel importante *per se* en la adhesión. El uso de NaOCl no parece tener ninguna ventaja sobre el grabado con ácido convencional en la mejora del sellado en dentina que no está protegida por esmalte, por eso la eficacia adhesiva es unánimemente considerada una función del grado de polimerización de los monómeros de la resina adhesiva en la capa de colágeno expuesta por la desmineralización (Jacobsen y Söderholm, 1995).

Si no es necesaria una capa híbrida para obtener una buena unión, puede ser posible realizar dicha unión entre sistemas adhesivos y la superficie de colágeno degenerada usando nuevos materiales y técnicas mejoradas. Si se obtiene la adhesión entre la dentina mineral y los adhesivos, puede que sea posible obtener mejor durabilidad de la capa híbrida (Inai y cols, 1998). Se necesitan más estudios para clarificar este punto.

VI. CONCLUSIONES

1. La humectabilidad de la dentina con agua aumenta cuando la superficie es grabada con ácido, independientemente de la profundidad a la que se encuentre, debido a un aumento de su rugosidad, a cambios morfológicos, interacciones químicas entre la superficie y el líquido y a la acción de capilaridad.
2. El tratamiento con NaOCl al 5% durante dos minutos aumenta más la humectabilidad al agua de la dentina profunda que en la dentina superficial, debido a la eliminación parcial de las fibras de colágeno, al aumento de la anchura de la apertura tubular y a la presencia de ramas laterales.
3. La humectabilidad de la dentina del adhesivo Syntact Sprint no cambia ni con la profundidad del tejido, ni con los tratamientos de superficie aplicados en este estudio, debido a que el ángulo de contacto depende sobre todo de las concentraciones de calcio y fósforo, cuyos efectos son compensados en la dentina profunda por su mayor capilaridad.
4. Las capas híbridas formadas en dentina grabada son distintas de las formadas en dentina tratada con NaOCl, siendo debido probablemente al gran tamaño de la molécula del MMPAA que dificulta la impregnación, así como el movimiento de agua hacia la superficie de la dentina, debido a la acción desecante de la acetona. La presencia de MMPAA y ácido maleico en la composición de Syntact Sprint podrían ejercer algún tipo de efecto autograbador.

5. El tratamiento con NaOCl en la dentina no contribuye en nada a la fuerza de adhesión con Syntact Sprint. Esto se debe a que este agente proteolítico produce cambios oxidativos en la capa de colágeno remanente o en la dentina intacta.

6. La profundidad de la dentina no influyó en la fuerza de adhesión cuando la superficie de dentina grabada se trató con NaOCl, debido a la ausencia de cambios significativos en las interfases de unión en ambas profundidades de dentina.

7. El tratamiento con NaOCl de la superficie de la dentina y el esmalte grabados no mejoró el sellado marginal producido con este sistema adhesivo, probablemente debido a la posible existencia de hipoclorito residual que podría causar un efecto negativo por la oxidación de algunos componentes de la matriz de dentina; estos interferirían en la iniciación de la polimerización por el oxígeno liberado de las moléculas del NaOCl.

VII. BIBLIOGRAFIA

VII. BIBLIOGRAFIA

Abate PF, Rodriguez VI, Macchi RL: Evaporation of solvent in one-bottle adhesives. *J Dent* 2000; 28 (6): 437-40.

Aguilar-Mendoza JA, Rosales-Leal JI, Rodríguez-Valverde MA, Cabrerizo-Vílchez MA. Effect of acid etching on dentin wettability and roughness: Self-Etching Primers versus Phosphoric Acid. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 2008a; 84B: 277-285.

Aguilar-Mendoza JA, Rosales-Leal JI, Rodríguez-Valverde MA, González-López S, Cabrerizo-Vílchez MA. Wettability and bonding of self-etching dental adhesives. Influence of the smear layer. *Dent Mater* 2008b; 24: 994-1000.

Akinmade AO, Nicholson JW. Glass-ionomer cements as adhesives. Part I. Fundamental aspects and their clinical relevance. *J Mater Sci Mater Med* 1993; 4: 95-101.

Albaladejo A, Osorio R, Toledano M, Ferrari M. Hybrid layers of etch-and-rinse versus self-etching adhesive systems. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2010; 15: 112-8

Anbar M, Farley EP. Potencial use of organic polyphosphonates as adhesives in the restoration of teeth. *J Dent Res* 1974; 53: 879-888.

Andreasson H, Boman A, Johnsson S, Karlosson S, Barregard L. On permeability of methyl methacrylate, 2-hydroxyethyl methacrylate and treithylenglycol dimethacrylate through protective gloves in dentistry. *Eur J Oral Sci* 2003; 111(6): 529-35.

Asmussen E, Hansen EK. Dentin bonding systems. En: State of the art in direct posterior filling materials and dentin bonding. Ed. Vanherie G y Degrange M, Van der Porten Pulishers, Leuven, 1993, pp. 33-47.

Asmussen E, Peutzfeldt A. Influence of UEDMA Bis GMA and TEGDMA on selected mechanical properties of experimental resin composites. *Dent Mater* 1998; 14(1): 51-6.

Atai M, keloomanesh M, Hashemi SA, Amani S. Physical and mechanical performance of an experimental dental composite based on a new monomer. *Dent Mater* 2004; 20(7): 663-8.

Attal JP, Asmussen E, Degrange M. Effects of surface treatment on the free surface energy of dentin. *Dent Mater*. 1994; 10: 259-264.

Barbosa de Souza F, Vicente Silva CH, Palma Dibb RG, Sincler Delfino C, Carneiro de Sousa L. Bonding performance of different adhesive systems to deproteinized dentin. Microtensile bond strength and scanning electron microscope. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 2005; 75B: 158-167.

Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. Oral anatomy, histology and embryology. 3^a edicion. Ed. Mosby, 2002.

Berry T, Barghi N, Knight GT, Conn LJ. Effectiveness of nitric-NPG as a conditioning agente for enamel. *Am J Dent* 1990; 59-62.

Billington RW, Blackwell GB, Prodger TE. Polyethilenically unsaturated monophosphates. United States patent number 4, 514, 342; Abril 30, 1985.

Blosser RL. Time dependence of 2.5% nitric acid solution as an etchant on human dentin and enamel. 1990.

Bowen RL, Cobb EN, Raspón JE. Adhesive bonding of various materials to hard tooth tisúes improvement in bond strength to dentón. *J Dent Res* 1982; 61: 1070-1076.

Brannstron M, Astrom A. The hydrodynamics of the dentin ; its possible relationship to dentinal pain. *Int Dent Journal* 1972; 22 : 219-227.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res* 1955; 34: 849-853.

Burrow MF, Satoh M, Tagami J. Dentin bond durability after three years using a dentin bonding agent with and without priming. *Dent Mater.* 1996; 12(5): 302-7.

Burrow MF, Inokoshi S, Tagami J. Water sorption of several bonding resins. *Am J Dent.* 1999Dec; 12(6): 295-8.

Busscher HJ, Retief DH, Arends J. Relationship between surface free energies of dental resins and bond strengths to etched enamel. *Dent Mater* 1987; 3: 60-63.

Cagidiaco MC, Ferrari M, Davidson CL. Comparison of in vivo and in vitro demineralized dentin with phosphoric and maleic acid. *ASDC J Dent Child*. 1997 Jan-Feb; 64(1): 17-21.

Cagidiaco MC, Ferrari M, Vichi A, Davidson CL. Mapping of tubule and intertubule surface areas available for bonding in class V and Class II preparations. *J Dent*. 1997 ; 25(5): 379-89

Cardoso PE, Braga RR, Carrilho MR. Evaluation of micro-tensile, shear and tensile tests determining the Bond strength of three adhesive systems. *Dent Mater* 1998; 14(6): 394-8.

Cardoso PC, Loguercio AD, Vieira LC, Baratieri LN, Reis A. Effect of prolonged application times on resin-dentin bond strengths. *J Adhes Dent* 2005; 7(2): 143-9.

Carvalho RM, Tay F, Sano H, Yoshiyama M, Pashley DH. Long-term mechanical properties of EDTA-demineralized dentin matrix. *J Adhes Dent*. 2000; 2(3): 193-9.

Carvalho RM, Mendoca JS, Santiago SL, Silveira RR, García FC, Tay FR, y cols. Effects of HEMA/solvent combinations on Bond strength to dentin. *J Dent Res* 2003; 82(8): 597-601.

Ceballos L, Osorio R, Toledano M, Marshall GW. Microleakage of composite restorations after acid or Er-YAG laser cavity treatments. *Dent Mater* 2001; 17(4): 340-6.

Cheng P, Li D, Boruvka L, Rotenberg Y, Neumann AW. Automation of axisymmetric drop shape for measurements of interfacial tensions and contact angles. *Coll Surf* 1990; 43: 151-167.

Cheng P, Neumann AW. Computational evaluation of axisymmetric drop shape analysis-profile (ADSA-P). *Coll Surf* 1992; 62: 297-305.

Chigira H, Koike T, Hasegawa T, y cols. Effect of the self-etching dentin primers on the bonding efficacy of a dentin adhesive. *Dent Mater J* 1989; 8: 86-92.

Coessens V, Pintauer T, Matyjaszewski K. Functional polymers by atom transfer radical polymerization. *Prog Polym Sci* 2001, 26 (3): 337-77.

Coli P, Alaeddin S, Wennerberg A, Karlsson S. In vitro dentin pretreatment: surface roughness and adhesive shear bond strength. *Eur J Oral Sci.* 1999 Oct; 107(5): 400-13.

Combe, EC. Materiales dentales. Barcelona; Ed. Labor, 1990.

Daumer KM, Khan AU, Steinbeck MJ. Chlorination of pyridinium compounds. Possible role of hypochlorite, n-chloramines, and chlorine in the oxidation of

pyridinoline cross-links of articular cartilage collagen type II during acute inflammation. *J Biol Chem* 2000; 275: 34681-34692.

Davidson CL, De Gee AJ. Relaxation of polymerization contraction stresses by flow in dental composites. *J Dent Res* 1984; 63: 146-148.

Davis RB and Mayhew RB. A clinical comparison of three anterior restorative resins at 3 years. *J Am Dent Assoc* 1986 May; 112(5): 659-63.

De Goes MF, Pachane GC, Garcia-Godoy F. Resin bond strength with different methods to remove excess water from the dentin. *Am J Dent* 1997; 10: 298-301.

Eick JD, Cobb CM, Chappell RP. The dentinal surface: Its influence on dentinal Adhesion. Part I. *Quintessence Int* 1991; 22: 967-977.

Eliades G, Palaghias G, Vougiouklakis G. Surface reactions of adhesives on dentin. *Dent Mater* 1990; 6: 208-216.

Eliades G, Vougiouklakis G, Palaghias G. Effect of dentin primers on the morphology, molecular composition and collagen conformation of acid-demineralized dentin in situ. *Dent Mater* 1999; 15: 310-317.

Engelmann J, Janke V, Volk J, Leyhausen G, Von Neuhoff N, Schlegelberger B, y cols. Effects of BisGMA on glutathione metabolism and apoptosis in human gingival fibroblasts in vitro. *Biomaterials* 2004; 25(19): 4573-80.

Erhardt MC, Osorio E, Aguilera F, Proenca JP, Osorio R, Toledano M. Influence of dentin acid-etching and NaOCl-treatment of bond strengths of self-etch adhesives. *Am J Dent.* 2008; 21: 44-8

Ericksson RL. Surface interactions of dentin adhesive materials. *Oper Dent* 1992; (Suppl 5): 81-94.

Fusayama T. Ideal cavity preparation for adhesive composites. *Asian J Aesthet Dent.* 1993; 1(2): 55-62.

Frankerbenger R, Tay FR. Self-etch vs etch-and-rinse adhesives: effect of thermo-mechanical fatigue loading on marginal quality of bonded resin composite restorations. *Dent Mater* 2005; 21: 397-412.

Frankenberger R, Kramer N, Petschelt A. A Technique sensitivity of dentin bonding: effect of application mistakes on bond strength and marginal adaptation. *Oper dent* 2000; 25: 324-330.

Fritz UB, Finger WJ. Bonding efficiency of single-bottle enamel/dentin adhesive. *Am J Dent* 1999; 12:277-282.

Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *J Dent Res.* 1979 Apr; 58(4): 1364-70

Fusayama T. New concept in operative dentistry. Chicago, Il: *Quintessence Pub. Co.*, pp 1980; 13-156

Gaengler P, Hoyer I, Montag R, Gaebler B. Micromorphological evaluation of posterior composite restorations – a 10-years report. *J Oral Rehab* 2004; 31(19): 991-1000.

Gallo JR, Burgess JO, Xu X. Effect of delayed application on shear bond strength of four fifth-generation bonding systems. *Oper Dent*. 2001 Jan-Feb; 26(1): 48-51

García Barbero J, Kessler Nieto F. Adhesión En: Patología y terapéutica dental Ed. J García Barbero, Síntesis, Madrid, 1997, pp. 467-482.

Gauthier MA, Stangel I, Ellis TH, Zhu XX. Oxygen inhibition in dental resins. *J Dent Res* 2005; 84(8): 725-9.

Geurtsen W. Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000; 11(1): 333-55.

Glantz PO, Baier RE, Cisteruss CE. Biochemical and physiological considerations for modelling biofilms in the oral cavity. *Dent Mater* 1996; 12: 208-14.

Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A. Histología y Embriología bucodental. Ed. Panamericana, Madrid, 1999.

Gwinnett J A, Buonocore MG. Adhesives and caries prevention; a preliminary report. *Br Dent J*. 1965 Jul 20; 119: 77-80.

Gwinnett AJ, Matsui A. A study of enamel adhesives. The physical relationship between enamel adhesive. *Arch Oral Biol* 1967; 12:1615-1620.

Gwinnett AJ. Histologic changes in human enamel following treatment with acidic adhesives conditioning agents. *Arch Oral Biol* 1971; 16: 731-738.

Gwinnett AJ. Interactions of dental materials with enamel. *Trans Acad Dent Mater* 1990; 3:30.

Gwinnett AJ, Garcia-Godoy F. Effect of etching time and acid concentration on resin shear bond strength to primary tooth enamel. *Am J Dent* 1992; 5: 237-240.

Gwinnett AJ. Quantitative contribution of resin infiltration/hybridization to dentin bonding. *Am J Dent* 1993; 6: 7-9.

Gwinnett AJ. Altered tissue contribution to interfacial bond strength with acid conditioned dentin. *Am J Dent*. 1994; 7(5): 243-6.

Gwinnett AJ, Yu S. Effect of long-term water storage on dentin bonding. *Am J Dent* 1995; 8(2): 109-11

Gwinnett AJ, Tay FR, Pang KM, Wei SH. Quantitative contribution of the collagen network in dentin hybridization. *Am J Dent*. 1996; 9(4): 140-4..

Hannig M, Reinhardt KJ, Bott B. Self-etching primer vs. phosphoric acid: An alternative concept for composite-to-enamel bonding. *Oper Dent* 1999; 24: 172-180.

Hasegawa T, manabe A, Itoh K, Wakumoto S. Investigation of self-etching dentin primers. *Dent Mater* 1989; 5: 408-410.

Hashimoto M; Ohno H, Kaga M, Endo, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resins of dentin-resin. *J Dent Res* 2000; 79: 1385-91.

Hashimoto M, Ito S, Tay FR, Svizero NR, Sano H, Kaga M, y cols. Fluid movement across the resin-dentin interface during and after bonding. *J Dent Res* 2004; 83(11): 843-8.

Hayakawa T, Kiku take K, Nemoto K. Influence of self-etching primer treatment on the adhesion of resin composite to polished dentin and enamel. *Dent Mater* 1998; 14: 99-105.

Hitmi L, Bouter D, Degrange M. Influence of drying and HEMA treatment on dentin wettability. *Dent Mater* 2002; 18(7): 503-11.

Hotta K, Mogi M, Mura F, Nakabayashi N. Effect of 4-MET on bond strength and penetration of monomers into enamel. *Dent Mater* 1992; 8: 173-175.

Ikeda T, De Munck J, Shiriai K, Hikita K, Inoue S, Sano H, y cols. Effect of evaporation of primer component on ultimate tensile strengths of primer-adhesive systems. *Dent Mater* 2005; 21(11): 1051-8.

Inaba D, Duschner H, Jongebloed W, Odellius H, Takagi O, Arends J. The effects of a sodium hypochlorite treatment on demineralized root dentin. *Eur J Oral Sci* 1995; 103: 368-374.

Inai N, Kanemura N, Tagami J, Watanabe LG, Marshall SJ, Marshall GW. Adhesion between collagen depleted dentin and dentin adhesives. *Am J Dent*. 1998; 11(3): 123-7.

Inoue S, Van Meerbeek B, Vargas M, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherie G. Adhesión mechanism of self-etching adhesives. En: *Advanced adhesive dentistry*. Ed. Tagami J, Toledano M, Prati C. *Cirimido, Italia*, 2000; pp. 131-148.

Jacobsen T, Söderholm KJ. Some effects of water on dentin bonding. *Dent Mater* 1995 Mar; 11(2): 132-6.

Jain P, Stewart GP. Effect of dentin primer on shear bond strength of composite resin to moist and dry enamel. *Oper Dent* 2000; 25: 51-58.

Kanca J. Resin bonding to wet substrate. I. Bonding to dentin. *Quintessence Int* 1992; 5: 127-129.

Kanca JA. Wet bonding: Effect of drying time and distance. *Am J Dent* 1996; 9: 273-276.

Kanca J, Sandrik J. Bonding to dentin. Clues to the mechanism of adhesion. *Am J Dent* 1998 Aug; 11(4): 154-9.

Kinloch AJ. Adhesion and Adhesives. Science and Technology. Ed Cpapman and Hall, 1987.

Labella R, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Vanherle G. Polymerization shrinkage and elasticity of flowable composites and filled adhesives. *Dent Mater* 1999 Mar; 15(2): 128-37

Lai SC, Mak YF, Cheung GS, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Reversal of compromised bonding to oxidized etched dentin. *J Dent Res*. 2001 Oct; 80(10): 1919-24.

Lee TY, Guymon CA, Jonsson ES, Hoyle CE. The effect of monomer structure on oxygen inhibition of (meth)acrylates photopolymerization. *Polymer* 2004; 45(18): 6115-62.

LeGercos. Chemical and crystallographic events in the caries process. *J Dent Rest* 1990; 69: 567-574.

Legler Lr, Retief Dh, Bradley EL, Denys FR, Sadowsky PL. Effects of phosphoric acid concentration and etch duration on the shear bond strength of an orthodontic bonding resin to enamel: An *in vivo* study. *Am J Orthod Dent Orthop* 1989; 96: 485-492.

Li D, Cheng P, Neumann AW. Contact angle measurement by axisymmetric drop shape analysis (ADSA). *Adv Colloid Interface Sci* 1992; 6: 39, 347-382.

Macchi, RL. Materiales dentales. Buenos Aires; Ed. Médica Panamericana, 2007.

McCabe JF, Anderson. Materiales de aplicación dental. Ed. Salvat, Barcelona, 1998

Meckel AH, Grebstein WJ, Neal RJ. Structure of mature human enamel as observed by electron microscopy. *Arch Oral Biol* 1965; 10: 775.

McCabe JF. Applied dental materials. Great Britain; Blackwell Publishing, 2006.

Maciel KT, Carvalho RM, Ringle RD, Preston CD, Russell CM, Pashley DH. The effects of acetone, ethanol, HEMA, air on the stiffness of human decalcified dentin matrix. *J Dent Res* 1996; 75(11): 1851-8.

Marshall GW. Dentin: Microstructure and characterization. *Quintessence Int* 1993; 24: 606-617.

Marshall GW, Marshall SJ, Kinney JH, Balloccch M. The dentin substrate structure and properties related to bonding. *J Dent* 1997a; 25: 441-458.

Marshall GW, Inai N, Magidi IW, Balooch M, Kinney JH, Tagami J, Marshall SJ. Dentin demineralization: effects of dentin depth, pH and different acids. *Dent Mater* 1997b; 13: 338-343.

Meckel AH, Griebstein WJ, Neal RJ. Structure of mature human dental enamel as observed by electron microscopy. *Arch Oral Biol*. 1965 Sep-Oct; 10(5): 775-83.

Milosevic A. The influence of surface finish and *in-vitro* pellicle on contact-angle measurement and surface morphology of three commercially available composite restoratives. *J Oral Rehabil* 1992; 85-97.

Miyazaki M, Tsubota K, Onose H, Hinoura K. Influence of adhesive application duration on dentin bond strength of single application bonding systems. *Oper Dent* 2002a; 27: 278-283.

Mjor IA, Pindborg JJ. *Histología del diente humano*. Ed. Lábor, Barcelona, 1974.

Montes MA, de Goes MF, da Cunha MR, Soares AB. A morphological and tensile bond strength evaluation of an unfilled adhesive with low-viscosity composites and filled adhesive in one and two coats. *J Dent* 2001; 29(6): 435-41

Monticelli F, Osorio R, Pisani-Proença J, Toledano M. Resistance to degradation of resin-dentin bonds using a one-step HEMA-free adhesive. *J Dent* 2007; 35: 181-186

Monticelli F, Toledano M, Silva AS, Osorio E, Osorio R. Sealing effectiveness of etch-and-rinse vs self-etching adhesives after water aging: influence of acid etching and NaOCl dentin pretreatment. *J Adhes Dent*. 2008; 10:183-8

Morrison RT, Boyd RN. Organic chemistry. Boston: Allyn and Bacon; 1973.

Moll Karjheinz, Gartner T, Haller BL. Effect of moist bonding on composite/enamel bond strength. *Am J Dent* 2002; 15: 80-90.

Moss L, Rueggerberg Fa, Standbury JW. Effect of solvent type on absorption profile of camphoroquinone. *J Dent Res* 2002; 81 (special issue A:A-255-A-225).

Nakabayashi N, Kojima D, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res* 1982; 16(3): 265-73.

Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Irregular layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthet Dent* 1991; 3: 133-138.

Nakabayashi N. Adhesive bonding with 4-META. *Oper Dent* 1992(suplemento 5); 125-130.

Nakabayashi N, Watanabe A, Ikeda W. Intra-oral bonding of 4 META/MIMA_TBB resin to vital human dentin. *Am J Dent* 1995; 8: 37-42.

Nakabayashi N, Saimi Y. Bonding to intact dentin. *J Dent Res* 1996; 75: 1706-1715.

Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental Hard Tissues. Chicago: *Quintessence*, 1998: 129.

Nakajima M, Okuda M, Pereira PN, Tagami J, Pashley DH. Dimensional changes and ultimate tensile strengths of wet decalcified dentin applied with one-bottle adhesives. *Dent Mater* 2002; 18(8): 603-8.

Nakaoki Y, Nikaido T, Pereira PN, Inokoshi S, Tagami J. Dimensional changes of demineralized dentin treated with HEMA primers. *Dent Mater*. 2000 Nov; 16(6): 441-6.

Nishiyama N, Suzuki K, Takahashi K, Nemoto K. The pK_a effects on the carboxylic acid in *N*-methacryloyl- ω -amino acid on the demineralization and bond strengths to the teeth. *Biomaterials* 2004; 25(23): 5441-7.

Nomura Y, Ishibashi H, Miyahara M, Shinohara R, Shiraishi F, Arizono K. Effects of dental resin metabolites on estrogenic activity in vitro. *J Mater Sci Mater Med* 2003; 14(4): 307-10.

Nunes TG, Ceballos L, Osorio R, Toledano M. Spatially resolved photopolymerization kinetics and oxygen inhibition in dental adhesives. *Biomaterials* 2005 May; 26(14): 1809-17

Nunes TG, García FC, Osorio R, Carvalho R, Toledano M. Polymerization efficacy of simplified adhesive systems studied by NMR and MRI techniques. *Dent Mater* 2006; 22(10): 963-72.

Odian G. Principles of polymerisation. New York: Willey Interscience, 2004.

Osorio R, Ceballos L, Tay F, Cabrerizo-Vilchez MA, Toledano M. Effect of sodium hypochlorite on dentin bonding with a polyalkenoic acid-containing adhesive system. *J Biomed Mater Res* 2002; 60: 316-324.

Packham DE. Adhesion. En: Handbook of adhesion. Ed. Packham DE, Essex: *Longman Scientific & Technical*, 1992; pp 18-20.

Panighi M, G'Sell C. Influence of calcium concentration on the dentin wettability by an adhesive. *J Biomed Mater Res* 1992; 26: 1081-1089.

Paranjpe A, Bordador LC, Wang MY, Hume WR, Jewett A. Resin monomer 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) is a potente inducer of apoptotic cell death in human and Mouse cells. *J Dent Res* 2005; 84(2): 172-7.

Pashley DH: Dentin: a dynamic substrate. A review. *Scan Microsc* 1989; 3: 161-270.

Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Horner JA. Permeability of dentin to agresive agents. *Quintessence Int* 1993; 24: 618-631.

Pashley DH, Sano H, Ciuchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion tests of dentin bonding agents: Review. *Dent Mater* 1995; 11: 117-125

Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent* 1997; 25: 355-372.

Pashley EL, Zhang Y, Lockwood PE, Rueggeberg FA, Pashley DH. Effects of HEMA on water evaporation from water-HEMA mixtures. *Dent Mater*. 1998 Jan; 14(1): 6-10.

Pashley DH, Tay FR. Aggressiveness of contemporary self-etching adhesives. Part II: etching effects on unground enamel. *Dent Mater* 2001; 17: 430-444.

Pashley DH, Carvalho RM, Tay FR, Agee KA, Lee KW. Solvation of dried dentin matrix by water and other polar solvents. *Am J Dent* 2002; 15(2): 97-102.

Pashley DH, Agee KA, Carvalho RM, Lee KW, Tay FR, Callison TE. Effects of water and water-free polar solvents on the tensile properties of demineralized dentin. *Dent Mater* 2003; 19: 347-52.

Perdigão J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Vanherle G, Lopes ALB. Field emission SEM comparison of four postfixation drying techniques for human dentin. *J Biomed Mater Res* 1995; 29: 1111-1120.

Perdigão J, Thompson JY, Toledano M, Osorio R. An ultra-morphological characterization of collagen-depleted etched dentin. *Am J Dent* 1999 Oct; 12(5): 250-5. Erratum in: *Am J Dent* 1999 Dec; 12(6) :308.

Perdigão J, Lopes M, Geraldeli S, Lopes GC, García-Godoy F. Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. *Dent Mater* 2000; 16(5): 311-23.

Perdigão J, Ritter AV. Adesão aos tecidos dentários. En: *Odontologia Restauradora – Fundamentos e possibilidades*. Baratieri, LN. Ed. Livraria Santos Editora, São Paulo, 2001.

Pereira PNR, Okuda M, Sano H, Yoshikawa T, Burrow MF, Tagami J. Effect of intrinsic wetness and regional difference on dentin bond strength. *Dent Mater* 1999; 15: 46-53

Peutzfeldt A. Resin composites in dentistry: the monomer systems. *Eur J Oral Sci* 1997; 105(2): 97-116.

Pioch T, Kobaslija S, Huseinbegovic A, Müller K, Dörfer CE. The effect of NaOCl dentin treatment on nanoleakage formation. *J Biomed Mat Res* 2001; 56: 578-583.

Proença J, Polido M, Osorio E, Erhardt MC, Aguilera F, García-Godoy F, Osorio R, Toledano M. Dentin regional bond strength of self-etch and total-etch adhesive systems. *D Mat* 2007; 23: 1542-1548

Prati C, Montanari G, Biagini G, Fava F, Pashley DH. Effects of dentin surface treatments on the shear bond strength of Vitrabond. *Dent Mater* 1992 Jan; 8(1): 21-6.

Prati C, Chersoni S, Pashley DH. Effect of removal of surface collagen fibrils on resin-dentin bonding. *Dent Mater* 1999 Sep; 15(5): 323-31

Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ. The effect of dentine location and tubule orientation on the bond strengths between resin and dentine. *J Dent*. 1999; 27(4): 265-74

Phrukkanon S, Burrow MF, Hartley PG, Tyas MJ. The influence of the modification of etched bovine dentin on bond strengths. *Dent Mater* 2000; 16(4): 255-65.

Reis A, Loguercio AD, Carvalho RM, Grande RHM. Durability of resin dentin interfaces: effect of surface moisture and adhesive solvent component. *Dent Mater* 2004; 20: 669-76

Retief DH, Busscher HJ de Boer P, Jangebloed WL, Arends J. A laboratory evaluation of three etching solutions. *Dent Mater* 1986; 2: 202-206.

Rosales JI, Marshall GW, Marshall SJ, Watanabe LG, Toledano M, Cabrerizo MA, Osorio R. Acid-etching and hydration influence on dentin roughness and wettability. *J Dent Res* 1999; 78: 1554-1559.

Rosales JI, Osorio R, Holgado J, Cabrerizo M, Toledano M. Dentin wetting by four adhesive systems. *Dent Mater* 2001; 17: 526-532.

Rotenberg Y, Boruvka L, Neumann AW. Determination of surface tension and contact angle from the shapes of axisymmetric fluid interfaces. *J Colloid Interface Sci* 1983; 93: 169-183.

Saboia VP, Rodrigues AI, Pimenta LA. Effect of collagen removal on shear bond strength of two single-bottle adhesive Systems. *Oper Dent* 2000; 25(5): 395-400.

Salz U, Zimmermann J, Salzer T. Self-curing, self-etching adhesive cement Systems. *J Adhes Dent* 2005; 7(1): 7-17.

Salz U, Zimmermann J, Zeuner F, Moszner N. Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems. *J Adhes Dent* 2005; 7(2): 107-16.

Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: Leakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 1995; 20: 18-25.

Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, Kanemura N, Morigami M, Tagami J y cols. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res* 1999; 78: 906-11.

Sauro S, Mannocci F, Tay FR, Pashley DH, Cook R, Carpenter GH, Watson TF. Deproteinization effects of NaOCl on acid-etched dentin in clinically-relevant vs prolonged periods of application. A confocal and environmental scanning electron microscopy study. *Oper Dent* 2009; 34: 166-173.

Sauro S, Mannocci F, Toledano M, Osorio R, Pashley D, Watson T. EDTA or H₃PO₄/NaOCl dentine treatments may increase hybrid layers' resistance to degradation: A microtensile bond strength and confocal-micropermeability study. *J Dent* 2009; 37: 279-288

Sheldon RP. Composite polymeric materials. London and New York: Applied Science Publisher, 1982.

Silva EM, Duarte PBPG, Poskus LT, Barcellos AAL, Guimaraes JGA. Nanoleakage and Microshear bond strength in deproteinized human dentin. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 2007; 81B: 336-342.

Silverstone LM. Fissure sealants: Laboratory studies. *Caries Res* 1974; 8: 2-26.

Silverstone LM, Saxton CA, Dogon IL, Fejerskov. Variations in the pattern of acid etching of human dental enamel examined by scanning electron microscopy. *Caries Res* 1975; 9: 373-387.

Skinner FK, Rotenberg Y, Neumann AW. Contact angle measurements from the contact diameter of sessile drops by means of a modified Axisymmetric Drop Shape Analysis. *J Colloid Interface Sci* 1989; 130: 25-34.

Söderholm KJ. Correlation of in vivo and in vitro performance of adhesive restorative materials: a report of the ASC MD156 Task Group on Test Methods for the Adhesion of Restorative Materials. *Dent Mater* 1991 Apr; 7(2): 74-83. Review.

Swift EJ Jr, Bayne SC. Shear bond strength of a new one-bottle dentin adhesive. *Am J Dent*. 1997 Aug; 10(4): 184-8.

Swift EJ, Wilder AD, May KN, Waddell SL. Shear bond strength of one-bottle dentin adhesives using multiple applications. *Oper Dent* 1997; 8: 194-199.

Spencer P, Swatford JR. Unprotected protein at the dentin-adhesive interface. *Quintessence Int* 1999; 30: 501-507.

Sun GJ, Chae KH. Properties of 2,3-butanodione and I-phenyl-1,2-propandione as new photosensitizer for visible light cured dental resin composites. *Polymer* 2000; 41(16): 6205-12.

Tanumiharja M, Burrow MF, Tyas MJ. Microtensile bond strengths of seven dentin systems. *Dent Mater* 2000; 16: 180-187.

Tay FR, Gwinnett AJ, pang KM, Wei SH. Strutural evidence of a sealed tissue interface with total etch wet technique, *in vivo*. *J Dent Res* 1994, 73: 629-636.

Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SHY. Micro morphological spectrum from over-drying to over-wetting acid-conditioned dentin in water-free, acetone-based, single-bottle primer/adhesives. *Dent Mater* 1996a; 12: 236-244.

Tay FR, Gwinnett AJ, Pang KM, Wei SHY. Resin permeation into acid-conditioned moist, dry dentin: A paradigm using water-free adhesive primers. *J Dent Res* 1996b; 75: 1034-1044.

Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SHY. The overwet phenomenon: A transmission electron microscopic study of study of surface moisture in the acid-conditioned, resin-dentin interface. *Am J Dent* 1996c; 9: 161-166.

Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SHY. The overwet phenomenon in two-component acetone-based primers containing aryl amine and carboxyl acid monomers. *Dent Mater* 1997; 13: 118-166.

Tay FR, Gwinnett JA, Wei SH. Relation between water content in acetone/alcohol-based primer and interfacial ultrastructure. *J Dent* 1998; 26(2): 147-56.

Tay FR, Carvalho JA, Sano H, Pashley DH. Effect of smear layers on the bonding of a self-etching primer to dentin. *J Adhesive Dent* 2000; 2: 99-116

Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching adhesives. Part I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater* 2001; 17: 296-308.

Tay FR, Pashley DH. Have dentin adhesives become too hydrophilic? *J Can Dent Assoc* 2003; 69(11): 726-31.

Ten Cate AR. *Histologia Oral*. Ed. Panamericana, Buenos Aires, 1986.

Toledano M, Osorio R, Perdigão J, Rosales JI, Thompson JY, Cabrerizo-Vilchez MA. Effect of acid etching and collagen removal on dentin wettability and roughness. *J Biomed Mater Res*. 1999 Nov; 47(2): 198-203.

Toledano M, Osorio R, Perdigão J, Rosales JI, Thompson JY. Effect of acid etching and collagen removal on dentin wettability and roughness. *J Biomed Mater Res* 1999a; 47(2): 198-203.

Toledano M, Osorio E, Osorio R, García-Godoy F. Microleakage of Class V resin-modified glass ionomer and compomer restorations. *J Prosthet Dent* 1999b; 81: 610-605.

Toledano M, Perdigão J, Osorio R, Osorio E. Effect of dentin deproteinization on microleakage of Class V composite restorations. *Oper Dent* 2000 Nov-Dec; 25(6): 497-504.

Toledano M, Osorio R, de Leonardi G, Rosales-Leal JI, Ceballos L, Cabrerizo-Vilchez MA. Influence of self-etching primer on the resin adhesion to enamel and dentin. *Am J Dent* 2001 Aug; 14(4): 205-10.

Toledano M, Osorio R, Sánchez F, Osorio E. Arte y Ciencia de los Materiales Dentales. Avances 2003, Ediciones Medico-Dentales, S.L. Madrid.

Toledano M, Osorio R, Osorio E, Prati C, Carvalho RM. Microhardness of acid-treated and resin infiltrated human dentine. *J Dent* 2005; 33(4): 349-54.

Toledano M, Proença JP, Erhardt MC, Osorio E, Aguilera FS, Osorio R, Tay FR. Increases in dentin-bond strength if doubling application time of an acetone-containing one-step adhesive. *Oper Dent* 2007;32:133-137.

Triolo PT, Swift EJ, Barkmeier WW. Effect of etching time on enamel bond strengths. *Am J Dent* 1993; 6: 302-304.

Uceda-Gómez N, Loguercio AD, Moura SK, Grande RH, Oda M, Reis A. Long-term bond strength of adhesive systems applied to etched and deproteinized dentin. *J Appl Oral Sci* 2007; 15: 475-479.

Unterbrink GL, Liebenberg WH. Flowable resin composites as "filled adhesives": literature review and clinical recommendations. *Quintessence Int* 1999 Apr; 30(4): 249-57. Review

Vaidyanathan TK, Vaidyanathan J. Recent advances in the theory and mechanisms of adhesive resin bonding to dentin: a critical review. *J Biomed Mat Res Part B: Appl Biomater* 2009; 88B: 558-578.

Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck JD, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, Coninho E, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials* 2007; 28; 3757-3785.

Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braen M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J Dent Res* 1992; 71: 1530-1540.

Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braen M, Lambrechts P, Vanherie G. comparative SEM and TEM examination of ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. *J Dent Res* 1993; 72: 495-502.

Van Meerbeek B, Conn LJ, Duke ES, Eick JD, Robinson SJ, Guerrero D. Correlative transmission electron microscopy examination of nondemineralized and demineralized resin-dentin interfaces formed by two dentin adhesive systems. *J Dent Res* 1996; 75: 879-888.

Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherie G. The clinical performance of adhesives. *J Dent* 1998; 26: 1-20.

Van Meerbeek, Yoshida I, Snawaert J, Hellemans L, Lambrechts P, Vanherle G, Wakasa K, Pashley DH. Hybridization effectiveness of a two-step versus a three-step smear layer removing adhesive system examined correlatively by TEM and AFM. *J Adhes Dent* 1999 Spring; 1(1):7-23.

Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P, y cols. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Oper Dent* 2001; 6: 119-44.

Van Meerbeek B, De Munck, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, y cols. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003; 28(3):215-35.

Vargas MA, Cobb DS, Armstrong SR. Resin-dentin shear bond strength and interfacial ultrastructure with and without a hybrid layer. *Oper Dent* 1997; 22(4): 159-66.

Wakabayashi Y, Kondou Y, Suzuki K, Yatani H, Yamashita A. Effect of dissolution of collagen on adhesion to dentin. *Int J Prosthodont* 1994; 7(4): 302-6.

Wamauchi J, Masuhara E, Nakabayashi N, Shibatani K, Wada T. Method of filling a tooth cavity. United States patent number 4; 259, 075; Marzo 31, 1981.

Watanabe LG, Lacy AM, Davis DR. Shear bond strength: single plane vs conventional lap shear. *J Dent Res* 1988; 67: 383 (Abstr. # 2159).

Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. *J Dent Res* 1994; 73(6): 1212-20.

Watanabe LG, Marshall GW, Marshall SJ. Dentin shear strength: Effects of tubule orientation and intratooth location. *Dent Mater* 1996; 12: 109-115.

Watanabe LG, Marshall GW, Marshal SJ. Variables influence on shear bond strength testing to dentin. In: Tagami J, Toledano M, Prati C, eds. *Advanced Adhesive Dentistry: Proceedings Book of the 3rd International Kuraray Symposium (Granada).Cirimido,Italy*. Tokyo: Kuraray Medical, 2000: 75-90.

Wege HA, Aguilar JA, Rodríguez-Valverde MA, Toledano M, Osorio R, Cabrerizo-Vilchez MA. Dynamic contact angle and spreading rate measurements for the characterization of the effect of dentin surface treatments. *J Colloid Interface Sci* 2003; 263: 162-169.

Wenzel RN. Resistance of solid surfaces to wetting by water. *Indust Eng Chem* 1936; 28: 988-994.

Yamazaki PCV, Bendran-Russo AKB, Pereira PNR. The effect of load cycling on nanoleakage of deproteinized resin/dentin interfaces as a function of time. *Dent Mater* 2008; 24: 867-873.

Yoshida K, Greener EH. Effect of photoiniciator on degree of conversion on unfilled light-cured resin. *J Dent* 1994; 22(5): 296-9.

Zheng L, Pereira PN, Nakajima M, Sano H, Tagami J. Relationship between adhesive thickness and microtensile bond strength. *Oper Dent* 2001; 26(1): 97-104.